



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Medicina Veterinaria**

**Escuela Profesional de Medicina Veterinaria**

**Evaluación de la protección de una vacuna vectorizada  
contra la Enfermedad de Gumboro bajo condiciones  
controladas en pollitas de postura comercial**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

**AUTOR**

Nicol Jhoseph LAVADO AVALOS

**ASESOR**

María Eliana ICOCHEA D'ARRIGO

Lima, Perú

2017



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Lavado, N. Evaluación de la protección de una vacuna vectorizada contra la Enfermedad de Gumboro bajo condiciones controladas en pollitas de postura comercial [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2017.

---



Universidad Nacional Mayor de San Marcos  
Universidad del Perú, Decana de América  
Facultad de Medicina Veterinaria  
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL  
TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO**

En el Auditorio Principal de la Facultad de Medicina Veterinaria, el día lunes **5 de junio de 2017**, a las **12:00** horas, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral N° **0136-EPMV/FMV-2017**, integrado por los siguientes profesores:

<b>HERMELINDA RIVERA GERÓNIMO</b>	Presidente del Jurado
<b>ELIANA ICOCHEA D'ARRIGO</b>	Asesora de la Tesis
<b>PABLO REYNA SANTILLÁN</b>	Miembro del Jurado
<b>ROSA GONZALEZ VÉLIZ</b>	Miembro del Jurado

Luego de la instalación del Jurado, a cargo del Presidente del Jurado y bajo la dirección del mismo, el Bachiller Don: **LAVADO AVALOS NICOL JHOSEPH**, para optar el Título Profesional de Médico Veterinario, procedió a sustentar públicamente la Tesis:

**“EVALUACIÓN DE LA PROTECCIÓN DE UNA VACUNA VECTORIZADA  
CONTRA LA ENFERMEDAD DE GUMBORO BAJO CONDICIONES  
CONTROLADAS EN POLLITAS DE POSTURA COMERCIAL”**,

Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria de la Asesora de la Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **DIECIOCHO (18)**.

Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las **13:00horas**, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuadruplicado los integrantes del Jurado:

.....  
Hermelinda Rivera G.: Mg. Prof. Principal D.E

.....  
Eliana Icochea D'Arrigo: Mg. Prof. Principal, T.C

.....  
Pablo Reyna Santillán MV MSc. Prof. Emérito

.....  
Rosa Gonzalez Véliz: MV. Prof. Asociado, D.E.




UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
*Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA*  
**Facultad de Medicina Veterinaria**  
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA


Trabajo sustentado y aprobado ante el Jurado designado por la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria mediante Resolución Directoral N° 0136-EPMV/FMV-2017

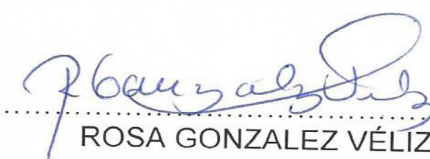
PRESIDENTE :

  
.....  
HERMELINDA RIVERA GERÓNIMO

MIEMBROS :


  
.....  
ELIANA ICOCHEA D'ARRIGO  
Asesora de la Tesis

  
.....  
PABLO REYNA SANTILLÁN

  
.....  
ROSA GONZALEZ VÉLIZ

San Borja, 5 de junio de 2017

V° B°

  
.....  
Dra. DAPHNE RAMOS DELGADO  
Directora de la Escuela Profesional de  
Medicina Veterinaria



*A mi mamá y papá, por el gran apoyo que me dieron en toda mi vida, espero que estén orgullosos de mí.*

*A mi hermana que siempre me inculcaba a estudiar cada vez más.*

*A Casandra Zavala por su gran apoyo y amor que me da.*

*A la Dra. Eliana por todo apoyo en mi carrera profesional y por el tiempo y paciencia para la elaboración de mi tesis.*

*A todos mis amigos profesionales que trabajan en el laboratorio de patología aviar de la FMV-UNMSM.*

*A mis amigos de la facultad, por todos los años compartidos juntos en la universidad.*

## AGRADECIMIENTOS

*A mi familia, por darme todo lo que necesitaba para mi desarrollo profesional.*

*A mi Directora de Tesis, la Dra. Eliana, por su gran apoyo y consejos para la elaboración de la tesis.*

*Al Laboratorio de Patología Aviar por permitirme el uso de sus instalaciones y todas las facilidades brindadas para la elaboración de la tesis.*

*A la mi alma mater, la Facultad de Medicina Veterinaria de San Marcos por enseñarme durante 6 años no solo conocimientos académicos de la carrera si no también valores para ser una mejor persona.*

*A todos los que de cualquier modo apoyaron la elaboración de la presente tesis, mi agradecimiento más sincero.*

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

	<b><u>Página</u></b>
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE DE CONTENIDOS	iv
LISTA DE CUADROS	vii
LISTA DE GRAFICAS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
<b>I. INTRODUCCION</b>	<b>1</b>
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b>	<b>3</b>
1. SISTEMA INMUNE AVIAR	3
1.1 Bursa de Fabricio	5
2. ENFERMEDAD INFECCIOSA DE LA BURSA	6
2.1 Historia	6
2.2 Etiología	7
2.2.1 Estructura del virus	7
2.2.2 Proteínas virales	7
2.2.3 Replicación viral	8
2.2.4 Resistencia del virus	8
2.2.5 Clasificación de cepas	9
2.3 Epidemiología	10
2.4 Transmisión	11
2.5 Patogénesis	11
2.6 Inmunosupresión	12
2.7 Presentación de la enfermedad	13
2.7.1 Forma Clínica	14
2.7.2 Forma Subclínica	14



2.8 Lesiones macroscópicas	15
2.9 Lesiones microscópicas	19
2.10 Diagnóstico	18
2.11 Diagnóstico diferencial	20
2.12 Prevención y control	21
2.12.1 Tipos de vacunas	21
2.12.1.1 Vacunas vivas	21
2.12.1.2 Vacunas inactivadas	22
2.12.2 Programa de vacunación	22
2.12.3 Vacunación en gallinas ponedoras	23
2.12.4 Nuevas vacunas	24
2.12.4.1 Vacunas vectorizadas	21
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>26</b>
1. MATERIALES	26
1.1 Lugar de estudio	26
1.2 Animales	26
1.3 Alimento y agua	26
1.4 Vacunas	27
1.5 Cepa de desafío	27
1.6 Equipo y materiales para la crianza	27
1.7 Equipo y materiales para la toma y evaluación de muestras	27
2. MÉTODOS	29
2.1 Tamaño muestral	29
2.2 Diseño experimental	29
2.3 Cronograma integral de vacunación	29
2.4 Cronograma de actividades a lo largo del estudio	30
2.5 Desafío experimental	30
2.6 Parámetros de evaluación	30
2.6.1 Signos clínicos y mortalidad	30
2.6.2. Evaluación de las lesiones macroscópicas	31

2.6.2.1 Índice bursal	31
2.6.2.2 Proceso de evaluación de las lesiones microscópicas	31
2.6.3. Evaluación serológica	32
2.6.4. Parámetros productivos	32
2.6.5. Análisis estadístico	32
<b>IV. RESULTADOS</b>	<b>33</b>
<b>V. DISCUSIÓN</b>	<b>43</b>
<b>VI. CONCLUSIONES</b>	<b>49</b>
<b>VII. BIBLIOGRAFÍA CITADA</b>	<b>50</b>
<b>VIII. APÉNDICE</b>	<b>57</b>

## LISTA DE CUADROS

	<u>Página</u>
Cuadro 1. Porcentaje de viabilidad post desafío de ambos grupos	35
Cuadro 2. Frecuencia de aves con edema en Bursa de Fabricio post desafío en aves sacrificadas	36
Cuadro 3. Frecuencia de aves con lesiones de Gumboro en aves muertas por post desafío	36
Cuadro 4. Promedio de Índice bursal y numero de aves con atrofia bursal hasta los 14 días post desafío	37
Cuadro 5. Calificación promedio de lesiones histopatológicas en Bursas de Fabricio	38
Cuadro 6: Títulos de anticuerpos (PGT) por ELISA a los 35 días de edad	39
Cuadro 7. Peso Corporal, uniformidad e I.C.A semanal de aves antes del desafío	39
Cuadro 8. Peso corporal promedio (antes y después del desafío) y Ganancia de peso a los 14 días post desafío	40

## LISTA DE GRAFICAS

	<u>Página</u>
Grafica 1.- Porcentaje de animales que presentaron diarrea hasta los 14 días post desafío	34
Grafica 2.- Porcentaje de animales que presentaron depresión hasta los 14 días post desafío	34
Grafica 3. Peso corporal semanal de aves durante todo el estudio	41
Grafica 4. Uniformidad de aves durante todo el estudio	41
Grafica 5. I.C.A. de aves durante todo el estudio	42

## RESUMEN

El presente estudio evaluó la protección conferida por un programa de vacunación contra la Enfermedad de Gumboro en pollas de postura comercial vacunadas con una vacuna vectorizada trivalente (HVT + ILT + IBD), aplicada al primer día de edad vía ocular. Se utilizaron 100 pollas de postura distribuidas en 2 grupos de 50 aves, el grupo A vacunado y el grupo B no vacunado. A los 35 días de edad se realizó el desafío vía ocular con una cepa clásica F 52/70 del virus de Gumboro. La protección fue evaluada mediante mortalidad, signos clínicos y parámetros productivos hasta el final del estudio; así mismo por las lesiones macroscópicas y microscópicas en Bursa e índice bursal, en 5 aves sacrificadas al día 35 (antes del desafío) y a los 38, 41 y 49 días de edad (post desafío). La protección inmune se evaluó a los 1, 35 y 49 días de edad mediante la prueba de ELISA. Posterior al desafío las aves del grupo B presentaron signos clínicos (diarrea y depresión) y lesiones macroscópicas y microscópicas más severos que en el grupo A. Así mismo el grupo B presentó mortalidad por Gumboro clínico de 33.3%, mientras que las aves del grupo A no presentaron mortalidad. Los valores del Índice Bursal de las aves del grupo B indicaron atrofia bursal a los días 6 y 14 días post desafío, no así las del grupo A. Al día 35, previo al desafío, las aves del grupo A tuvieron títulos de anticuerpos significativamente mayores que las del grupo B. Al final del estudio el grupo vacunado obtuvo los mejores parámetros productivos en relación al grupo no vacunado ( $p < 0.05$ ). Estos resultados permiten concluir que la vacunación de pollitas de postura con la vacuna vectorizada trivalente al primer día de edad, induce protección contra la enfermedad clínica después del desafío.

**Palabras claves:** Virus de la enfermedad infecciosa de la Bursa (IBDV), vacuna vectorizada trivalente, efectos de protección, mortalidad

## ABSTRACT

The present study evaluated the protection afforded by a vaccination program against Gumboro Disease in commercial laying hens vaccinated with a trivalent vectorized vaccine (HVT+ILT+IBD), applied via eye-drop at first day of age. 100 commercial laying hens was used, divided into 2 groups of 50 animals each, group A vaccinated and group B no vaccinated. Groups were challenged via eye-drop using the classic F 52/70 strain of Gumboro virus at 35 days of age. Protection was evaluated by mortality, clinical signs and productive parameters up to the end of study, likewise for macroscopic and microscopic lesions in bursa and bursal index evaluated in 5 birds at day 35 (before the challenge), 38, 41 and 49 days of age (after the challenge). The immune protection was evaluated through ELISA test at 1, 35 and 49 days of age. After the challenge, the birds of group B show clinical signs (diarrhea and depression) and macroscopic and microscopic lesions more severe than group B. Moreover, group B show 33.3% of mortality by clinical Gumboro, while the birds of group A show no mortality. Values of bursal index of group B indicated bursal atrophy at 6 and 14 days post challenge, opposite to group A. At day 35, before the challenge, the birds of group A have significantly higher antibody titers than group B. At the end of the study, the best productive parameters was obtained in vaccinated group ( $p < 0.05$ ). These results allow concluding that vaccination of commercial laying hens at first day of age with the trivalent vectorized vaccine induced protection against the clinical disease after the challenge.

**Key words:** Infection bursitis disease virus (IBDV), trivalent vectorized vaccine, protection effects, mortality

## I. INTRODUCCIÓN

La Enfermedad Infecciosa de la Bursa (EIB) o Enfermedad de Gumboro es una amenaza para la industria avícola comercial. El impacto económico de la enfermedad varía según la forma de infección, en la forma clínica, el impacto es debido a las pérdidas por la mortalidad y la afectación de parámetros productivos por la diarrea que ocasiona, mientras que en la forma subclínica el impacto económico está asociado a las consecuencias de la inmunosupresión como son la reducción de la capacidad para responder a las vacunaciones, la exacerbación de infecciones por otros agentes patógenos y el retraso del crecimiento (Ashraf, 2005; Saume *et al.*, 2007).

La Enfermedad de Gumboro es una infección viral aguda, altamente contagiosa de pollos jóvenes, considerada como la principal enfermedad inmunosupresora de las aves (Vidal, 2006). Su incidencia tiene un carácter global y es elevada, tiene un índice de morbilidad alto, que se acerca a 100%, la mortalidad puede alcanzar 20-30% o más según patotipo viral (Etteradossi y Saif, 2013).

La EIB fue reconocida por primera vez en 1962 por Cosgrove en Gumboro, Delaware, EEUU. En el Perú se le conoce desde el año 1969 cuando se registraron los primeros casos (Castro-Pozo, 1994). El virus pertenece al género Avibirnavirus de la familia Birnaviridae, es de simetría cúbica y carece de envoltura externa, su ARN es de doble cadena con dos segmentos (A y B) rodeado por una cubierta proteica (Falcón *et al.*, 1998). El segmento A codifica la proteína VP2, la cual contiene importantes sitios antigénicos para la neutralización y la respuesta inmune protectora; la región variable del gen VP2 es vulnerable a la variación de aminoácidos, que es responsable de la generación de variantes antigénicas entre cepas (Ashraf, 2005). El virus posee dos serotipos (1 y 2), solamente los virus del serotipo 1 causan enfermedad en pollos (Saif, 2006).

La infección tiene dos formas de presentación, si el pollo es infectado antes de las tres semanas de vida, se produce un gran efecto inmunodepresor sin signos clínicos “forma subclínica” dejándolos indefensos ante otros agentes patógenos (Reyna, 2003; Garriga, 2009). Sin embargo, si el pollo es infectado después de las tres semanas, generalmente aparece la enfermedad con evidentes manifestaciones clínicas “forma clínica” (Reyna, 2003), observándose diarrea blanquecina o acuosa, depresión, postración intensa, plumas erizadas, pérdida del apetito, picaje cloacal, plumas sucias en la cloaca, temblores y la muerte en 2 a 3 días después de los primeros signos clínicos (León, 2008; Sarachai *et al.*, 2010).

Los principales métodos de prevención y control son la bioseguridad y la vacunación a las reproductoras, pollos de engorde y pollas comerciales (Etienne, 2002; Sarachai *et al.*, 2010). La inmunidad pasiva es importante debido a que protege a las aves de infecciones tempranas (1 a 3 semanas) evitando la inmunosupresión subclínica; además del nivel de inmunidad, también es importante la uniformidad de anticuerpos maternos, si existe desuniformidad no se asegura adecuada protección a toda la progenie (Hair-Bejo *et al.*, 2004; Vidal, 2006).

En ponedoras comerciales, generalmente los planes de vacunación incluyen la aplicación de 2 ó 3 vacunas de virus vivo intermedia durante la crianza. (Saif, 2006; Villegas, 2009). También se sabe que las pollitas de postura comercial son más susceptibles al virus de Gumboro, esto por su genética y por ser aves de crecimiento lento, por eso, es de gran importancia la inmunización de éstas por el largo período de vida productiva que tienen, siendo la patogenicidad de las cepas vacúnales aún mucho mayor que en pollos de carne, por lo tanto, es conveniente contar con estudios que evalúen las nuevas alternativas de vacunación como son las vacunas vectorizadas en comparación a las vacunas convencionales con virus vivo completo y determinar el nivel de protección, seguridad y costos de las mismas (León, 2006; Romero, 2006). Los virus vectores como el HVT (Herpesvirus of Turkey) de la enfermedad de Marek son genéticamente contruidos para expresar proteínas estructurales propias y ajenas como son las proteínas antigénicas de interés por ejemplo la VP2 del virus de Gumboro. (Perozo *et al.*, 2010).

El objetivo del presente estudio fue evaluar la protección conferida de una vacuna comercial vectorizada trivalente que usa como vector el virus HVT de la Enfermedad de Marek y contiene fracciones antigénicas de los virus de la Laringotraqueitis Infecciosa Aviar (ILT) y la Enfermedad de Gumboro en pollas de postura al ser aplicada al primer día de edad.



## **II. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **1. SISTEMA INMUNE AVIAR**

Si bien las aves de hoy en día son más eficientes y productivas también existe un efecto negativo en cuanto a la rusticidad de estas aves. Los sistemas intensivos de producción, han ocasionado que las aves sean más susceptibles a las enfermedades, es por ello, que se requiere que su sistema inmune se encuentre en condiciones óptimas de funcionamiento, sin embargo, en las condiciones en que son criadas las aves, el sistema inmune se ve sometido constantemente a factores inmunodepresores de diversos tipos, físicos como los cambios bruscos de temperatura, manejo durante las vacunaciones o recorte de pico, químicos como micotoxinas y agentes biológicos como los virus (Ledesma, 2011).

El sistema inmune aviar consta de dos mecanismos de defensa inmunológica: la respuesta adaptativa o natural y la respuesta inmune adquirida. La respuesta adaptativa incluye barreras anatómicas (piel, cilios traqueales, membranas mucosas), barreras fisiológicas (fiebre, enzimas, fluidos corporales, pH), células de respuesta inflamatoria y el sistema de complemento. La inmunidad adquirida incluye los mecanismos de respuesta celular y humoral, que son dependiente de los órganos linfoides del sistema inmune (Leon, 2008; Tizard, 2009).

Los componentes del sistema inmune son los órganos linfoides primarios y secundarios. Los órganos linfoides primarios son los que regulan el desarrollo de los linfocitos, estos se pueden dividir en dos principales poblaciones, linfocitos T y linfocitos B. Los linfocitos T maduran en el

timo, mientras que en el caso de las aves, los linfocitos B maduran en la bolsa de Fabricio. La bolsa de Fabricio y el timo se desarrollan en estadios fetales tempranos. A medida que el animal se desarrolla, los linfocitos inmaduros recién formados migran desde la médula ósea hacia los órganos linfoides primarios para su maduración (Tizard, 2009).

Los órganos linfoides secundarios se originan durante la vida fetal tardía, persisten en el individuo adulto y están ampliamente distribuidos a través de todo el cuerpo del ave (Tizard, 2009). Los órganos linfoides secundarios comprenden: el bazo, la médula ósea y las estructuras linfoides (glándula de Harder, tonsilas cecales, placas de Peyer y divertículo de Meckel), todos estos son los responsables de la captación y procesamiento del antígeno (Borne y Comte, 2003; Robin, 2008).

Por el lado de las inmunoglobulinas (Ig), los pollos poseen IgM, IgY (o IgG) e IgA, pero no poseen IgE, siendo su IgY la que realiza muchas de las funciones de su carente IgE (Sharma, 2011).

Ig M, es la principal Ig producida durante la respuesta inmune primaria, Ig M aparece después de 4-5 días después de la exposición del agente infeccioso y luego desaparece por 10-12 días (Butcher y Miles, 2015). Aunque se produce en cantidades pequeñas, es más eficaz que la IgG en la activación de complemento, opsonización, neutralización de virus y aglutinación (Tizard, 2009).

Ig A, aparece después de 5 días después de la exposición del agente infeccioso. Este anticuerpo se encuentra principalmente en las secreciones de la mucosa peri ocular, intestino y tracto respiratorio, proporcionando una protección "local" a estos tejidos (Butcher y Miles, 2015). Ig A tiene el componente secretorio, que es el activo y muy resistente a la proteólisis. Tienen muchas clases de inmunoreactividad contra bacterias, micoplasmas, virus, proteínas alimentarias y autoantígenos (San Gabriel, 1983).

Ig Y, esta es transferida de la madre al saco vitelino mientras el huevo aún está en el ovario y la albúmina adquiere las IgA e IgM durante su viaje por el oviducto (Sharma, 2011). Se detecta después de 5 días después de la exposición del agente infeccioso, con picos de 3 a 3 1/2 semanas, para luego lentamente decrecer. Ig Y es el principal inmunoglobulina protectora en el pollo y se mide por la mayoría de pruebas serológicas. Por lo tanto, si deseamos determinar los niveles de títulos de anticuerpos después de la vacunación, se debe colectar suero después de 3 a 3 1/2 semanas, si se evalúa sueros antes de este tiempo, los niveles de títulos de anticuerpos seguirán

umentando, esto hace que la interpretación del programa de vacunación sea difícil (Butcher y Miles, 2015).

### ***1.1 Bursa de Fabricio***

Órgano linfoide primario y único de las aves, descubierta por Hyeronimus Fabricius en el año 1621. El primer esbozo de este órgano aparece al cuarto día de incubación en la unión del ectodermo y el endodermo (Davison, 2008; Leon, 2008).

La Bursa de Fabricio está formada por linfocitos embebidos en tejido epitelial, formando un saco hueco que conecta con la cloaca por un conducto corto. Dentro del saco, los pliegues epiteliales se extienden hacia la luz (el número de pliegues es variable, entre 15 a 20), estos pliegues están recubiertos por un epitelio cilíndrico. Los folículos linfoides están dispersos entre los pliegues y son masas redondeadas de linfocitos, cada folículo está dividido por una corteza y una medula. La corteza contiene linfocitos, células plasmáticas y macrófagos; en la unión corticomedular hay una membrana basal y una red capilar dentro de la cual hay células epiteliales, que son remplazadas por linfoblastos y linfocitos en el centro del folículo (Davison, 2008; Tizard, 2009; Ledesma, 2011).

La Bursa de Fabricio, en ausencia de agentes infecciosos o inmunodepresores, alcanza su mayor tamaño a las dos semanas tras la eclosión y debe estar presente hasta las 12 o 14 semanas de vida del ave, tiempo en el cual inicia su involución, de modo que a las 20 semanas únicamente quedan vestigios (Tizard, 2009; Ledesma, 2011).

La Bursa de Fabricio tiene como funciones de ser el lugar de maduración y diferenciación de las células formadoras de anticuerpos (los linfocitos B). Las células inmaduras producidas en la medula ósea migran a la Bursa, estas células proliferan rápidamente, pero el 90% a 95% de ellas acaban muriendo por apoptosis (selección negativa de los linfocitos B autoreactivos). Una vez completada su maduración, los linfocitos B supervivientes migran hacia los órganos linfoides secundarios. Otra de la función de la Bursa es captar antígenos al momento que el ave defeca, ya que la capa de músculo liso del intestino se continúa en la Bursa de modo que la contracción del músculo hace funcionar a la bolsa como una perilla de succión (Tizard, 2009; Ledesma, 2011).

## **2. ENFERMEDAD INFECCIOSA DE LA BURSA**

### ***2.1 Historia:***

La enfermedad de Gumboro o enfermedad infecciosa de la bursa de Fabricio (EIBF), fue descubierta en los Estados Unidos de América en una localidad de Gumboro y fue reportada oficialmente en pollos de engorde por Cosgrove (1962). Sus primeros brotes se produjeron en el área de Gumboro, por lo que pasó a denominarse “Enfermedad de Gumboro”. Cosgrove la denominó nefrosis aviar por las lesiones renales que provocaba, confundiéndola en un principio con procesos causados por el virus de Bronquitis (Sacristán y Sagardía, 2005; Babaahmady, 2005).

En el año 1965 la afección se había extendido por todas las zonas productoras de broilers y huevos de Estados Unidos. Predominaban las cepas clásicas o estándar y se controlaban mediante vacunación (Banda, 2006).

Posteriormente, Hitchner (1970), propuso el término (EIBF) como nombre de la enfermedad debido a las lesiones que producía en la bursa de Fabricio, mientras que Lukert *et al.* (1997) y Pizarro *et al.* (2001), la denominaron como Bursitis Infecciosa debido a la gran depleción de linfocitos que ocasiona el virus en Bursa (Babaahmady, 2005).

Hasta 1987, las cepas del virus fueron de baja virulencia, causando menos de 2% de mortalidad específica y satisfactoriamente controlada por la vacunación. Sin embargo, entre 1986 y 1987, aparecieron en Europa, originalmente en Holanda, brotes virulentos y graves que alcanzaban hasta 30 y 60% de mortalidad en broilers y ponedoras respectivamente, los virus de la enfermedad de Gumboro causantes de estos brotes se les identificaron como cepas muy virulentas (vvIBDV – Very virulent Infection Bursal Disease Virus) (Van der Berg, 2000; Banda, 2006).

Aproximadamente al mismo tiempo se estaban aislando virus de la enfermedad de Gumboro variantes en EE.UU. Estas cepas causaron enfermedad en presencia de inmunidad materna contra el virus clásico (Banda, 2006).

## ***2.2 Etiología***

El agente etiológico de la enfermedad es el virus de la bursitis infecciosa (IBDV – Infection Bursal Disease Virus) que pertenece a la familia Birnaviridae del género Avibirnavirus. El nombre Birnavirus fue propuesto para describir los virus con 2 segmentos de ARN de doble cadena. Otros virus incluidos en este grupo son el virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) de los peces, el virus X Drosophila de la mosca de la fruta y el virus Tellina de los moluscos bivalvos. Todos contienen dos segmentos de ARN de cadena doble rodeado por una sola proteína de la cápside de simetría icosaédrica (Ashraf, 2005; Eterradosi y Saif, 2013).

### ***2.2.1 Estructura del virus***

El virus no es envuelto, tiene una cubierta simple de simetría icosaédrica compuesta por 92 capsómeros y con un diámetro que varía de 55 a 65 nm (Paredes, 2006; Eterradosi y Saif, 2013). La estructura del genoma viral consiste en dos segmentos, el segmento más grande es el segmento A, el cual codifica las proteínas virales VP2, VP3, VP4 y VP5. El segmento más pequeño es el segmento B, este codifica a la proteína viral VP1 (Van der Berg, 2000; Leon, 2008).

### ***2.2.2 Proteínas virales***

El segmento A codifica una poliproteína precursora que se divide por la proteasa viral VP4 para producir las proteínas virales VP2 (48kDa), VP4 (29 kDa) y VP3 (33 kDa); el segmento A también codifica la proteína no estructural VP5 (17 kDa). El segmento B codifica una proteína de 90 kDa conocida como VP1 (Jackwood, 2009).

El VP1 es una polimerasa RNA dependiente, presente en cantidades pequeñas en el virión como un polipéptido libre, así como unido a la proteína del genoma. Esta proteína es responsable de la síntesis de ARNm y la replicación del genoma. Se ha demostrado que tiene un efecto sobre la eficiencia de la replicación viral y que también modula la virulencia del virus in vivo (Van der Berg, 2000; Ashraf, 2005).

La proteína VP2 constituye la cápside, es la proteína de mayor importancia inmunogénica porque induce la formación de anticuerpos neutralizantes y posee variaciones en la secuencia de aminoácidos en su región hipervariable que es la responsable de las diferencias en antigenicidad y

patogenicidad de las cepas y serotipos existentes (Paredes, 2006). Esta proteína por inducir la formación de anticuerpos, ha sido utilizada para desarrollar vacunas de subunidades de VP2 y virus recombinantes que contienen gen VP2 de IBDV (Ghafari *et al.*, 2010).

La proteína VP3 también forma parte de la capsida junto con la VP2, pero se ubica en la superficie interior (Maas *et al.*, 2004). La proteína VP3 es un antígeno de grupo no específico que es reconocido por anticuerpos no neutralizantes, algunos de los cuales reaccionan de forma cruzada con ambos serotipos (1 y 2).

La proteína VP4 está implicada en el procesamiento de la poliproteína precursora y actúa como una proteasa codificada por el virus (Ashraf, 2005).

La proteína no estructural VP5 está presente sólo en las células infectadas con IBDV y no se requiere para la replicación viral (Ashraf, 2005). Anteriormente se consideraba que la VP5 estaba involucrada en la inducción de la apoptosis, pero luego se demostró que tiene una función antiapoptótica en la fase temprana de la infección de IBDV. Sin embargo, el mecanismo del cual VP5 inhibe la apoptosis no está claro (Wei *et al.*, 2011).

### ***2.2.3 Replicación viral***

En general, se conoce poco acerca de los eventos bioquímicos vinculados con la replicación viral de los birnavirus. El mecanismo de la síntesis de ARN no se ha determinado con claridad aunque se ha demostrado que el virus replica su ácido nucleico mediante un mecanismo de desplazamiento de filamento. La transcripción y replicación se produce luego de la penetración celular sin desnudamiento total del virus (Etteradossi y Saif, 2013).

### ***2.2.4 Resistencia del virus***

El virus no es envuelto por lo que es bastante resistente a los agentes físicos y químicos. Debido a su estabilidad y resistencia, este persiste en los ambientes de crianza, incluso después de la limpieza y desinfección (Ashraf, 2005).

El virus es muy resistente incluso a altas temperaturas, es capaz de permanecer viable por encima de 56°C como a pH entre 2 y 12 (Sacristán y Sagardía, 2005), también se ha reportado que el virus sobrevive a una temperatura de 37°C durante 90 min (Ashraf, 2005), como también a 60 °C durante 30 minutos, pero no a 70 °C (Etienne, 2002).

Se observó una marcada reducción de la infectividad del virus después de un tratamiento con 0.5% de formalina durante 6 horas. El virus no se ve afectado por el éter, cloroformo, fenol, timerosal. En un estudio para evaluar la actividad de tres desinfectantes en varias concentraciones (un complejo de yodo, un derivado fenólico y un amonio cuaternario) durante un periodo de dos minutos a 23°C. Sólo el complejo de yodo tuvo algún efecto perjudicial sobre la viabilidad viral. (Eterradossi y Saif, 2013)

Es conocido que el escarabajo de la cama, *Alphitobius diaperinus*, puede actuar como un vector y puede proporcionar un mecanismo importante para la persistencia del virus los ambientes de crianza. La eficacia y la eficiencia de la limpieza, desinfección y fumigación por lo tanto puede ser un factor crítico en la persistencia del virus (McIlroy *et al.*, 1989).

### **2.2.5 Clasificación de cepas**

Los métodos de clasificación más comunes son los serológicos y genéticos. Los métodos serológicos dependen de la reacción de los anticuerpos frente al agente infeccioso. Mediante las pruebas de virus neutralización se identifican dos serotipos del virus que se designan como serotipos 1 y 2, con las pruebas de anticuerpos fluorescentes y ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), no se pueden distinguir; solamente los virus del serotipos 1 causan enfermedad en pollos y ninguno es patógeno en los pavos. La inmunización contra el serotipo 2 no protege contra el serotipo 1 (Saif, 2006; Eterradossi y Saif, 2013).

Los virus del serotipo 1 se clasifican en virus clásicos y variantes. Las cepas de virus clásicos comprenden a las de patogenicidad intermedia y las de virus muy virulentos. Los virus de cepas variantes también pertenecen al serotipo 1 y estos difieren antigénicamente de los virus clásicos (Banda, 2009).

Las cepas variantes antigénicas evolucionaron a partir de los virus clásicos a través de un importante cambio antigénico. Las cepas variantes tienen la capacidad de infectar a los pollos en los

primeros cinco días de vida, causando una rápida atrofia bursa y posterior una inmunosupresión, a pesar de tener niveles elevados de anticuerpos contra las cepas clásicas (Banda, 2009).

### ***2.3 Epidemiología***

Durante la 63ª Sesión General de la Oficina Internacional de Epizootias (OIE, París, 15 a 19 Mayo de 1995), se estimó que la Enfermedad de Gumboro tiene una considerable importancia socio-económica a nivel internacional, ya que la enfermedad está presente en más de 95% de los Países Miembros, en esta encuesta, el 80% de los países informaron la aparición de los casos clínicos agudos (Van der Berg, 2000).

Desde 2001, se han secuenciado más de 150 cepas de IBDV de América Latina. Algunos países de América Latina muestran cepas muy virulentas, virus clásicos y variantes (Jackwood, 2009). Como resultado de las investigaciones en la Universidad de Georgia, se determinó que el 80% de los virus detectados en el Sureste de los EUA correspondían a variantes antigénicas del tipo Delaware, virus similares fueron detectados en Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela, es posible que los virus detectados en América Latina fueron originados de las cepas de los Estados Unidos debido a las similitudes genéticas observadas entre ambos (Van der Berg, 1991; Banda, 2009a).

Las cepas muy virulentas no presentan cambios antigénicos significativos en comparación con las cepas clásicas o estándares, sin embargo, tienen considerable mayor virulencia, estas cepas se han diseminado prácticamente por todo el mundo. Desde Julio de 1997, una forma muy virulenta de Gumboro fue observada en granjas de pollos de engorde en Brasil, las características clínicas y patológicas eran similares a las observadas en Europa, Asia y África. De las investigaciones en la Universidad de Georgia se determinó que las cepas muy virulentas detectadas en América Latina, por su similitud genética, pueden tener como origen a los virus Europeos. Los virus de Venezuela resultan ser los más cercanos a la cepa europea UK661, que ha sido considerada como el prototipo de los virus muy virulentos. Cepas muy virulentas se han detectado también en Colombia y en Uruguay (Van der Berg, 1991; Banda, 2006).

En el Perú, la enfermedad se conoce desde el año 1969 siendo los primeros casos descritos por Ramos y Tsunehigen (Castro-Pozo, 1994). Durante los años 2004 al 2005 brotes por virus muy



virulento semejante a las cepas brasileras ocasionaron brotes en pollos de engorde y pollas de postura comercial en granjas ubicadas en la selva peruana frontera con Brasil (Alva *et al.*, 2008).

#### **2.4 Transmisión**

El virus se transmite rápidamente de un animal a otro por la vía oral, por contacto directo, a través de vectores inanimados, agua o alimento contaminados con heces infectadas; los pollos infectados excretan el virus hasta dos semanas post infección. El hombre y las aves silvestres también pueden servir como portadores mecánicos del virus (Etienne, 2002; Vidal, 2006). No hay evidencia de que el IBDV se transmita a través del huevo o que exista un estado de portador verdadero en las aves recuperadas (Etienne, 2002; Eterradossi y Saif, 2013).

El *Alphitobius diaperinus*, tomado de un local con ocho semanas después de un brote, puede continuar siendo infeccioso para pollos susceptibles cuando se les alimenta con una suspensión de tierra. No hay evidencias adicionales que apoyen la conclusión de que los mosquitos o las ratas actúen como vectores o reservorios del virus. Pagés–Manté informó que un perro alimentado con pollos que habían muerto de la enfermedad de Gumboro aguda, eliminaban vvIBDV viables en sus heces hasta dos días después de la ingestión, pero no tres días (Eterradossi y Saif, 2013).

#### **2.5 Patogénesis**

El resultado de la infección por IBDV es dependiente de la patogenicidad de la cepa, la cantidad del virus infectante, la edad, la línea genética, la vía de inoculación y la presencia o ausencia de anticuerpos neutralizantes. La gravedad de la enfermedad está directamente relacionada con el número de células sensibles presentes en la bolsa de Fabricio; por lo tanto, la más alta susceptibilidad de edad es entre 3 y 6 semanas, cuando la bolsa de Fabricio se encuentra en su máximo desarrollo (Van der Berg, 2000).

La infección se lleva a cabo por vía oral, ya sea directamente (de animal a animal), o indirectamente por los excrementos en fómites contaminados (Etienne, 2002). En estudios secuenciales de tejidos originarios de pollos infectados por vía oral, utilizando

inmunofluorescencia, se detectó antígeno viral en macrófagos y células linfoides del ciego a las 4 horas después de la inoculación; después de 1 hora más se detectó virus en células linfoides en el duodeno y yeyuno. El virus llegó primero al hígado, donde se le detectó 5 horas después de la inoculación; posteriormente el virus se disemina por el torrente sanguíneo, donde se distribuye hacia otros tejidos, incluyendo la bolsa de Fabricio (Eterradossi y Saif, 2013). Se identifican células de la bursa infectadas a las 11 horas después de la exposición oral (Etienne, 2002). A las 16 horas post inoculación se produce una segunda y pronunciada viremia con una segunda replicación. La causa exacta de enfermedad y muerte no está clara pero no parece estar relacionada solamente a la severidad de las lesiones y al daño bursal sino debido a la formación de complejos inmunes (Van der Berg, 2000).

El período de incubación es muy corto, de dos a tres días, signos histológicos de infección se detectan en la bursa a las 24 horas. La excreción del virus persiste dos semanas después de la infección. Aunque otros órganos linfoides también se ven afectados, el órgano diana principal es la bursa. El virus infecta las células B en la etapa inmadura y provoca un efecto citolítico sobre estas células en división activa (Etienne, 2002).

## ***2.6 Inmunosupresión***

La inmunosupresión inducida por el virus de la enfermedad infecciosa de la bursa en términos moleculares es el resultado de un complejo grupo de interacciones entre las diferentes proteínas virales y los linfocitos B infectados (Fribourg, 2010).

Los pollos infectados con IBDV muestran inmunosupresión humoral y celular. Inmunosupresión humoral parece estar asociada a la lisis de los linfocitos B. El mecanismo de inmunosupresión celular inducida por IBDV aún no está claro (Carballeda *et al.*, 2011).

Los pollos infectados por IBDV desarrollan una depleción marcada de los linfocitos B que lleva inmunoglobulina (Ig) M en su superficie, lo que conduce a la supresión severa de células B durante la fase aguda de la infección por IBDV. Además de lisis, se ha postulado que la depleción de linfocitos B en la bursa, también es causada por la inhibición de la proliferación y la inducción de la

apoptosis (Rauw *et al.*, 2007). Las células inmaduras B y T son particularmente susceptibles a la muerte celular apoptótica (Van der Berg, 2000).

Las células de bursa y bazo de pollos infectados con el IBDV, muestran regulación positiva de la expresión del gen de interferón gamma (IFNy). El IFNy es un factor que induce efectos antivirales de células inmunes como macrófagos y linfocitos T citotóxicos, estos últimos inducen apoptosis en células infectadas con virus. Un aumento en el número de células T citotóxicas en los folículos bursales infectados y la regulación positiva del gen para IFNy en células bursales sugieren una fuerte remoción viral de los linfocitos T citotóxicos (Fribourg, 2010). Además el IFNy producido por el linfocito T activado por el IBDV, activa a los macrófagos para producir factores inflamatorios como el óxido nítrico, TNF alfa, IL 6 que pueden ocasionar la destrucción celular (Van der Berg, 2000). Por otro lado, los macrófagos y los monocitos pueden ser infectados por IBDV, entonces son activados directamente y sirven como portadores del virus desde el sitio de infección en el intestino a la Bursa y otros tejidos periféricos (Rauw *et al.*, 2007).

El daño en la Bursa producido por un virus de campo de la enfermedad infecciosa de la Bursa es transitorio, los folículos vuelven a poblarse con linfocitos y se recupera la arquitectura tisular; sin embargo, la respuesta primaria de anticuerpos se mantiene deprimida hasta por 7 semanas postinfección, pero finalmente se recupera; la duración del proceso de recuperación dependen de la edad de infección y la virulencia de la cepa (Fribourg, 2010).

## ***2.7 Presentación de la enfermedad***

La enfermedad tiene dos formas de presentación: clínica y subclínica, que están determinadas por la edad cuando ocurre la infección, por la virulencia de la cepa viral involucrada y por el grado de inmunidad de las aves infectadas (Valladares, 2010).

Si el pollo es infectado cuando tiene menos de tres semanas de vida, se produce un gran efecto inmunodepresor sin signos clínicos que es conocido como “forma subclínica”, esta forma deja al ave indefensa ante otros agentes patógenos (Reyna, 2003; Garriga, 2009). Sin embargo si el pollo es infectado después de las tres semanas de edad, generalmente aparece la enfermedad con manifestación de signos clínicos “forma clínica” (Reyna, 2003).

Estudios previos han reportado que el orden de susceptibilidad a la enfermedad de Gumboro es en primer lugar las gallinas ponedoras, seguido por los broilers y finalmente por las reproductoras (Leon, 2008).

### **2.7.1 Forma Clínica**

IBDV tiene un corto período de incubación de 2 a 3 días y la infección dura generalmente de 5 a 7 días (Harris, 2010; Eterradossi y Saif, 2013).

Los signos clínicos no son específicos, los cuales incluyen depresión, plumas erizadas, diarrea acuosa (debido al aumento de la ingesta de agua y menor consumo de alimento) y la muerte súbita (Van der Berg *et al.*, 1991). Otros síntomas son picaje de la cloaca, plumas cloacales sucias, temblores e incoordinación (Eterradossi y Saif, 2013).

Los pollos supervivientes se recuperan después de 5 días. La tasa de mortalidad es muy variable (5 a 15%) y depende de varios factores, como la virulencia y dosis de la cepa viral, la edad y línea genética (Rauw *et al.*, 2007). Se ha observado que la mortalidad en pollitas puede llegar hasta un 60%, lo que sugiere una diferencia en la susceptibilidad entre las gallinas y pollos (Van der Berg *et al.*, 1991).

### **2.7.2 Forma Subclínica**

La forma subclínica es producida usualmente por la infección de cepas variantes en aves menores a tres semanas de edad, las infecciones por cepas clásicas de virulencia moderada pueden también causar la forma subclínica de la enfermedad, sobre todo en aves infectadas menores a dos semanas de edad. La gravedad del daño sobre el sistema inmune depende del momento de la vida del ave en el que ocurre la infección, entre más joven sea el ave la inmunodepresión resultante será más severa (Valladares, 2010).

Las pérdidas económicas más importantes son el resultado de infecciones subclínicas, ya que al afectar el rendimiento disminuye la rentabilidad (McIlroy *et al.*, 1989; Harris, 2010).

En Latinoamérica y en los Estados Unidos la presentación más importante de la enfermedad ocurre como un cuadro subclínico. Esta presentación cursa con inflamación inicial de la bolsa de Fabricio y posteriormente atrofia de la misma, lo que genera un estado de inmunodepresión que produce un incremento en la susceptibilidad hacia patógenos diversos que causan enfermedades infecciosas (colibacilosis, coccidiosis, hepatitis con cuerpos de inclusión, enfermedad de Marek, dermatitis gangrenosa etc.), además afecta el desarrollo productivo (peso final al mercado, ganancia de peso, conversión alimenticia, índices de productividad bajos), aumenta la incidencia de complicaciones en las enfermedades respiratorias, aumenta la severidad de las reacciones post vacunales y induce respuestas serológicas menores a lo esperado en las vacunaciones rutinarias (McIlroy *et al.*, 1989; Harris, 2010; Valladares, 2010).

### ***2.8 Lesiones macroscópicas***

La distribución tisular y la gravedad de las lesiones dependen del subtipo y la patogenicidad del virus. (Ashraf, 2005)

La Bursa es el órgano diana para la replicación de IBDV y por lo tanto es la más afectada. El patrón característico de cambios bursales observados durante el curso de la infección difiere entre los virus clásicos y variantes. Durante la infección con los virus clásicos, la Bursa se incrementa de tamaño de forma transitoria acompañada de inflamación. Después que pasa la inflamación, se atrofia. Por otra parte, las infecciones con virus variantes pueden o no ir acompañadas de inflamación, pero comúnmente los virus variantes ocasiona una rápida atrofia de la bolsa (Ashraf, 2005; González, 2005).

Cheville, hizo un estudio detallado del peso de las bolsas durante 12 días posteriores a la infección con una cepa clásica, menciona que es importante que se comprenda la secuencia de las alteraciones cuando se examinen aves para diagnóstico, en el tercer día posterior a la infección la bolsa aumenta de tamaño y peso debido al edema e hiperemia. Hacia el cuarto día suele tener el doble de su peso y tamaño normal y entonces comienza a decrecer. Hacia el quinto día, la bolsa ha retornado a su peso normal, pero la bolsa continúa atrofiándose y hacia el octavo día tiene alrededor de una tercera parte de su peso original (Harris, 2010; Eterradossi y Saif, 2013).

Hacia el segundo o tercer día posterior a la infección, la bolsa tiene un trasudado amarillento gelatinoso que cubre la superficie serosa. Las estriaciones longitudinales de la superficie se vuelven prominentes y el color blanco normal cambia a crema. El trasudado desaparece al retornar la bolsa a su tamaño normal y el órgano se torna gris durante y después del periodo de atrofia (González, 2005; Eterradossi y Saif, 2013). También se pueden formar cúmulos caseosos dentro de la luz del tejido epitelial apelmazado (Guadarrama *et al.*, 2009).

Las aves infectadas se deshidratan y se oscurecen los músculos pectorales. Las hemorragias se producen en los músculos del muslo y pectoral, en la mucosa de la unión proventrículo-ventrículo y en la superficie serosa y plica de la bolsa (Harris, 2010). La hemorragia de los músculos se debe a que el IBDV interfiere con el mecanismo de coagulación de la sangre normal (Butcher y Miles, 2009). Hay un aumento de moco en el intestino y se observan cambios renales en aves enfermas, debido a la deshidratación. El aspecto macroscópico de los riñones puede parecer normal en las aves que se practica la necropsia durante el curso de la infección. En las aves que mueren o se encuentran en etapas avanzadas de la enfermedad, los riñones muestran con frecuencia hinchazón y la palidez con gran acumulación de uratos en los túbulos y los uréteres (Ashraf, 2005; Harris, 2010; Eterradossi y Saif, 2013).

El hígado puede estar inflamado y mostrar infartos periféricos (Guadarrama *et al.*, 2009). El bazo puede estar ligeramente aumentado de tamaño con pequeños focos de color gris distribuidos uniformemente en la superficie. En comparación con las cepas del IBDV moderadamente patógenas, las muy virulentas inducen daños más graves a las tonsilas cecales, el timo, el bazo y la médula ósea, y una mayor disminución en el índice de peso del timo (Ashraf, 2005; Harris, 2010; Eterradossi y Saif, 2013).

## ***2.9 Lesiones microscópicas***

El virus se replica activamente en los linfocitos B en estadios de diferenciación temprana en los folículos de la Bursa de Fabricio produciendo degeneración y necrosis, se han descrito adicionalmente lesiones en bazo, timo, glándula de Harder y tonsilas cecales (Fribourg, 2010). La bursa es donde se producen las primeras lesiones y es el órgano más afectado (Ashraf, 2005).

En la Bursa el primer día posterior a la infección, hay degeneración y necrosis de linfocitos en el área medular de los folículos linfoides (Etteradossi y Saif, 2013). La degeneración de linfocitos se acompaña de picnosis nuclear, formación de gotas de lípidos en el citoplasma y estos linfocitos están rodeados por los macrófagos. Los linfocitos son pronto reemplazados por heterófilos, restos picnóticos, y células del retículo endotelial hiperplásicas (Ashraf, 2005). El día 3 ó 4 después de la infección, las lesiones asociadas a IBDV son visibles en todos los folículos de la bolsa. En este momento, las infecciones con cepas de IBDV clásicos provocan una respuesta inflamatoria caracterizada por un edema severo, la infiltración de heterófilos e hiperemia en la bursa (Harris, 2010). La Bursa puede recuperarse aproximadamente 8 días después del desafío y comienza a repoblarse de linfocitos B. En la mayoría de folículos, la médula es repoblada más rápido que la corteza (Vervelde, 1997).

En casos más severos, a medida que disminuye la reacción inflamatoria, aparecen cavidades quísticas en la región medular de los folículos de la bolsa. Se produce la necrosis y la fagocitosis de heterófilos, también la fibroplasia en el tejido conectivo inter-folicular (Ashraf, 2005; Leon, 2008). La proliferación de la capa epitelial bursal provoca una estructura glandular de células epiteliales cilíndricas con glóbulos de mucina (Etteradossi y Saif, 2013). Entre 8 y 12 días después de la infección, la Bursa es reducida a menos de una cuarta parte de su tamaño original (Butcher y Miles, 2009).

Las lesiones microscópicas causadas por cepas variantes se caracterizan por una amplia depleción linfoide folicular y rápida atrofia plical de la Bursa, muchas veces de ausencia de una respuesta inflamatoria (Harris, 2010).

En las etapas iniciales de la infección en el bazo se produce hiperplasia de células reticulendoteliales alrededor de vainas adenoides en las arterias, hacia el tercer día se ve necrosis linfoide en los folículos germinales y en las vainas linfoides periarteriolares, sin daño sostenido en los folículos germinales. El timo y las tonsilas cecales exhiben cierta reacción celular en los tejidos linfoides en las etapas tempranas de la infección, pero la recuperación es rápida. Los virus variantes ocasionan lesiones más leves en el timo que los virus clásicos (Etteradossi y Saif, 2013).

## **2.10 Diagnóstico**

En campo, se puede hacer un prediagnóstico, considerando factores epidemiológicos como la edad de las aves afectadas, morbilidad e intensidad y tendencia de la mortalidad, la curación 5 a 7 días después del pico de mortalidad (Ashraf, 2005), también por signos clínicos y lesiones macroscópicas; en las etapas posteriores de la enfermedad es difícil hacer el prediagnostico ya que solo se puede observar la atrofia de bolsa de Fabricio (Butcher y Miles, 2009; Kegne y Chanie, 2014). Las infecciones de pollos de cualquier edad con cepas variantes sólo se detectan por medio de histopatología de la bolsa de Fabricio o con aislamiento del virus (Eterradossi y Saif, 2013).

El diagnóstico de laboratorio se puede hacer por medio de detección de antígenos virales en tejidos, como el aislamiento del virus, lesiones histopatológicas y técnicas moleculares como la reacción en cadena de la retrotranscriptasa-polimerasa (RT-PCR), o por medio de la reacción a los anticuerpos, como la prueba de precipitación en gel agar, prueba de virus neutralización y prueba de ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), siendo este último el método serológico más sencillo, rápido y económico porque permite manejar un gran número de muestras a la vez y es adaptable a la automatización de software (Ashraf, 2005; Sjaak, 2006; Villegas, 2006).

**Detección de antígenos virales en tejidos**, la cual existen técnicas directas ó indirectas de anticuerpos fluorescentes así como pruebas de inmunohistoquímica, que han demostrado ser muy confiables para detectar la presencia del virus de Gumboro en tejidos. Hay comercialmente una prueba de ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas mediante captura de antígeno (AC-ELISA), que utiliza los anticuerpos monoclonales (Mabs), mediante esta prueba se pueden diferenciar las cepas clásicas y variantes (Banda, 2011). La detección inmunohistoquímica del antígeno viral es un diagnóstico rápido y seguro y puede ser útil en el diagnóstico diferencial. Además estudios inmunohistoquímicos han permitido determinar la secuencia de la aparición del antígeno viral dentro de varios órganos y se ha informado que la distribución del antígeno viral en estos órganos varía con la patogenicidad de las cepas (Perera *et al.*, 2003).

**Aislamiento viral**, se puede llevar a cabo mediante la inoculación de material sospechoso en aves libres de patógenos específicos (SPF) de 4 a 6 semanas de edad. También se puede realizar el aislamiento en huevos embrionados y cultivos celulares (Banda, 2011). En huevos embrionados se debe utilizar huevos SPF embrionados con 9-11 días de incubación, preferentemente la inoculación



debe ser vía membrana corioalantoica; en cultivo celular es conveniente usar fibroblastos de embrión de pollo, células renales y Bursa de embrión de pollo (Sjaak, 2006). No resulta práctico llevar a cabo el aislamiento viral de forma rutinaria, ya que puede tomar tiempo, además, ciertas cepas de campo son difíciles de aislar en el laboratorio (Banda, 2011).

**Los cambios histopatológicos** en los órganos linfoides constituyen una buena herramienta para el diagnóstico de esta enfermedad, pero sus resultados no se deben tomar como absolutos ya que existen otros agentes infecciosos y no infecciosos que pueden causar daños similares (Perera *et al.*, 2003).

**La reacción de anticuerpos en presencia del antígeno**, se pueden medir por la prueba de ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), la prueba de precipitación en gel de agar (AGP), y la prueba de neutralización del virus (VN) (Harris, 2010). La prueba de precipitación en agar puede ser usada para una rápida detección y cuantificación de anticuerpos en aves convalecientes, pero su sensibilidad es baja y es incapaz de diferenciar serotipos (Valladares, 2010), normalmente detecta los anticuerpos 7-14 días después de la infección o de la vacunación (Sjaak, 2006). La prueba de virus neutralización es el método más sensible para la detección de anticuerpos contra el IBDV, la prueba se realiza en un sistema de micro titulación usando como antígeno un virus adaptado al crecimiento en cultivo celular y fibroblastos de embrión de pollo, esta prueba es cuantitativa y es la única prueba serológica que puede ayudar a diferenciar entre diferentes serotipos y subtipos antigénicos del IBDV (Harris, 2010; Valladares, 2010). La capacidad del suero para neutralizar un virus de referencia es determinante y el punto final del título de neutralización (VN título) se expresa como el recíproco de la dilución más alta del suero que no muestra efectos citopáticos (Harris, 2010). La realización de la prueba de VN es compleja, relativamente costosa, consume tiempo y no permite la evaluación de una gran cantidad de sueros de manera simultánea, por eso uso está limitado a aplicaciones de investigación (Ashraf, 2005; Valladares, 2010).

La prueba de ELISA es la prueba más usada en los laboratorios de diagnóstico, esta prueba no es específica de serotipo y detecta anticuerpos tanto del serotipo 1 como del serotipo 2 y no permite la diferenciación de anticuerpos contra diferentes subtipos antigénicos, ya que utiliza virus completos como antígenos. La prueba de ELISA tiene las ventajas de ser rápida, relativamente fácil de hacer y requiere de cantidades mínimas de suero para su realización, así mismo, permite que los resultados sean fácilmente exportables a un software que permite almacenar y organizar los resultados en una

base de datos, para hacer comparaciones y análisis estadísticos (Valladares, 2010). La mayoría de pruebas ELISA detectan los primeros anticuerpos a los 7 -10 días después de la infección o vacunación (Sjaak, 2006). Una de las principales aplicaciones de los sistemas ELISA es determinar el desempeño de los programas de vacunación, determinar la magnitud de la exposición hacia virus de campo, predecir los niveles de inmunidad materna en la progenie y determinar la edad más adecuada para la primera vacunación (Banda, 2011).

**Técnicas de diagnóstico molecular**, debido a la gran variabilidad genética del IBDV, además la variabilidad de sus propiedades antigénicas y patogénicas, actualmente cada vez más se usan las pruebas de biología molecular que son las más precisas para la identificación y caracterización de las cepas del IBDV (Banda, 2011; Valladares, 2010). En los laboratorios se utiliza la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa acoplada a Retrotranscriptasa (RT-PCR) para detectar la presencia del virus en el tejido bursal, después de confirmar la presencia del virus, este se puede tipificar utilizando las pruebas del Polimorfismo de la Longitud de los Fragmentos de Restricción (RFLP) o la prueba de Secuenciación genética de la región hipervariable del gen VP2; sin embargo, con el tiempo se fueron detectando cepas que no podían ser clasificadas adecuadamente con el RFLP, por lo que la tendencia actual es la utilización de la secuenciación genética de la región hipervariable del gen de la proteína VP2 (hvVP2), siendo este método el más preciso en la actualidad (Jackwood, 2009; Valladares, 2010).

### ***2.11 Diagnóstico diferencial***

Los signos y lesiones de enfermedad de Gumboro pueden ser semejantes a los de otras enfermedades que presentan signos muy parecidos, entre las cuales tenemos anemia infecciosa e intoxicación con sulfas (por las hemorragias musculares y las hemorragias en las mucosas que se observan en la unión del proventrículo y de la molleja), Enfermedad de Marek y micotoxicosis (por la atrofia de la bursa, pero las lesiones son diferentes), coccidiosis (por el comienzo súbito, morbilidad, plumas erizadas, depresión de las aves), bronquitis infecciosa (por la deshidratación que causa lesiones en el riñón) (Butcher y Miles, 2009; Eterradosi y Saif, 2013; Kegne y Chanie, 2014).

## ***2.12 Prevención y control***

Los métodos más importantes de prevención y control de la enfermedad en la industria comprenden la bioseguridad y la vacunación, este último teniendo en cuenta un programa eficaz de vacunación a las reproductoras y la vacunación en el momento oportuno a los pollos de carne y pollitas comerciales (Etienne, 2002; Sarachai *et al.*, 2010).

Antes de hablar de vacunación debemos darle énfasis a la bioseguridad, que permite disminuir la concentración del virus en el ambiente y con ello reducir la intensidad del desafío a las aves. Se deben considerar el aislamiento, limpieza y desinfección de los galpones, restricción y sanitización del personal, vehículos y materiales, así como el control de vectores (Nilipour, 2006), pero debido a la alta resistencia del virus en el medio ambiente y su amplia distribución, las medidas de higiene por sí solas, aunque son esenciales, son a menudo insuficientes (Van Den Berg, 2000).

La inmunización a través de la vacunación es el principal método para controlar la enfermedad de Gumboro (Banda, 2011), la vacunación se basa en dos enfoques diferentes, uno consiste de proteger las aves jóvenes de la enfermedad subclínica mediante la inmunidad pasiva transmitida por la madre y el otro es vacunar a las aves utilizando vacunas vivas para evitar la enfermedad clínica (Van der Berg *et al.*, 1991).

### ***2.12.1 Tipos de vacunas***

Existe dos tipos principales de vacunas: vivas e inactivadas.

#### ***2.12.1.1 Vacunas vivas***

Las vacunas vivas son producidas en huevos embrionados SPF, donde las cepas suelen atenuarse para reducir su patogenicidad (capacidad para inducir daño en la bursa de aves libres de patógenos), cuanto más fuerte la atenuación, mayor es la susceptibilidad a la interferencia con los anticuerpos maternos, menor es la capacidad de difusión y menor es la eficacia frente a cepas de campo muy virulentas (Saif, 2006; Gardin *et al.*, 2011).

Existen muchas cepas de vacunas vivas con base en la virulencia y propiedades antigénicas. Las cepas vacúnales varían en su virulencia y pueden inducir cierto grado de atrofia e inmunodepresión. De acuerdo a su virulencia, las vacunas se pueden clasificar en suaves, intermedias-suaves, intermedias, intermedias-plus o cepas "calientes" (Banda, 2011). Las cepas intermedias son las más utilizadas debido a sus lesiones histopatológicas más leves en bursa y son altamente inmunogénicas, en comparación de las cepas más fuertes "calientes" que causan mayores lesiones en bursa, pudiendo afectar el rendimiento de las aves y predisponer o agravar otras infecciones en las aves (Saif, 2006).

#### **2.12.1. 2 Vacunas inactivadas**

La mayoría de las vacunas inactivadas de la enfermedad de Gumboro son producidas con el virus completo, utilizando ya sea huevos embrionados, cultivos celulares o en pollos cuyos Bursas se colectan unos pocos días después de la inoculación con virus vivo, los virus cosechados son inactivados y luego colocados en una suspensión con emulsión oleosa que desempeña el papel de coadyuvante (Gardin *et al.*, 2011). Las cepas inactivadas propagadas en Bursas o embriones inducen títulos de anticuerpos más altos detectados por ELISA en comparación con los títulos inducidos por cepas de cultivo derivado de células (Banda, 2009b).

Las vacunas inactivadas se utilizan para producir anticuerpos uniformes, elevados y duraderos. Cuando se utilizan después de las vacunas vivas son más efectivas, para tener un título permanentemente alto de anticuerpos en los lotes de gallinas reproductoras (Saif, 2006; Banda, 2011).

#### **2.12.2 Programa de vacunación**

El diseño de un programa de vacunación exitoso está basado en algunos factores como: cantidad de virus en el medio ambiente, diversidad antigénica del virus, nivel de inmunidad materna y uniformidad, edad de las aves, pollitos de diferentes lotes de reproductoras, vía de vacunación, virulencia del virus vacunal, condiciones de stress y manejo ambiental (Saif, 2006; Saume *et al.*, 2007; Banda, 2011). El principal problema con la inmunización activa es determinar el tiempo adecuado de vacunación que permita la replicación adecuada del virus de la vacuna y que proteja a las aves de la enfermedad (Ashraf, 2005).

Se requieren aproximadamente 10 a 12 días después de la vacunación para desarrollar títulos protectores mínimos (Butcher y Miles, 2009), los anticuerpos maternos disminuyen entre los 14 a 21 días de edad y a partir de esa edad las aves se vuelven susceptibles al virus, para hacer frente a este problema, se recomienda a menudo la vacunación con IBDV vivos atenuados entre los 10 - 14 días de edad, esta vacunación estimula una respuesta inmune activa en las aves cuando la inmunidad pasiva (materna) está disminuyendo (Jackwood, 2005).

El descenso de la inmunidad materna puede resultar acelerado por el probable desafío de campo y como factores de variabilidad también deben considerarse la historia de antecedentes de brotes en la zona de crianza, así como las dificultades en el manejo sanitario para reducir el desafío de campo y las condiciones de manejo existentes en el momento de la crianza (Perera *et al.*, 2005).

Los planes de vacunación contra la enfermedad de Gumboro practicados en las reproductoras generalmente contemplan la aplicación de dos vacunas a virus vivo durante la crianza, seguidas de la vacuna inactivada que contiene antígenos múltiples, aplicada antes del período de producción, con esto se logra la hiperinmunización de las madres (Villegas, 2009).

### ***2.12.3 Vacunación en gallinas ponedoras***

Se sabe que las pollitas de postura comercial son las más susceptibles al virus de Gumboro, esto por su genética y por ser aves de crecimiento lento, por eso, es de gran importancia la inmunización de estas por el largo período de vida productiva que tienen, es por eso que se utilizan cepas vacúnales de mayor patogenicidad de las que se utilizan en pollos de carne; por lo tanto, se ha visto la necesidad de contar con nuevas alternativas, que confieran adecuada protección y reducción de los riesgos y costos de las vacunas convencionales, es así que una nueva alternativa es el empleo de vacunas vectorizadas (Di Fabio, 2006; León, 2006; Romero, 2006). Generalmente los planes de vacunación de ponedoras comerciales incluyen la aplicación de 2 o 3 vacunas a virus vivo intermedio durante la crianza (Saif, 2006; Villegas, 2009).

#### **2.12.4 Nuevas vacunas**

En la actualidad existe una tendencia hacia el reemplazo de las vacunas convencionales por aquellas desarrolladas mediante técnicas de ingeniería genética donde se elimina la manipulación de agentes patógenos completos, como vacunas *in ovo*, vectorizadas, entre otras (Zanetti *et al.*, 2009).

La industria avícola mundial actualmente está utilizando la vacunación *in ovo* a los 18 días de incubación, debido principalmente a que permite vacunar a las aves en presencia de anticuerpos maternos sin riesgo a la neutralización viral, además este método es práctico y disminuye la mano de obra. En la vacunación *in ovo* pueden ser aplicadas vacunas a virus vivo, complejos inmunes o vacunas vectorizadas (Perozo *et al.*, 2010), los complejos inmunes se componen de partículas del virus - antígeno (Ag) unidas o ligadas a anticuerpos (Ac) específicos contra el virus. Un complejo inmune puede ser formado *in vitro* en el laboratorio por la simple mezcla de una solución de Ac con una solución de Ag viral o como normalmente ocurre, se forma naturalmente en el organismo cuando antígenos y anticuerpos específicos se encuentran y reaccionan en la corriente sanguínea (Sesti, 2011).

##### **2.12.4.1 Vacunas vectorizadas**

Las vacunas vectorizadas, consisten en insertar en un agente conocido como vector, genes de otro agente, de tal forma que el “vector” es capaz de producir anticuerpos contra sí mismo y contra el otro agente del cual han sido incorporados los genes que expresa su antígeno (León, 2008; Banda, 2011). Los virus recombinantes están genéticamente modificados para expresar además de las proteínas estructurales propias del virus vector, proteínas antigénicas de interés como es el caso de la proteína viral 2 (VP2) del virus de Gumboro. Existen disponibles en el mercado o algunas nuevas vacunas están aún en etapa experimental, productos recombinantes que usan como vector el virus de viruela aviar, el herpesvirus de pavo, el virus adenoasociado aviar y el adenovirus (Van Den Berg, 2000; Perozo *et al.*, 2010).

Las primeras vacunas vectorizadas en la avicultura usaban el virus de la viruela aviar como vector, posteriormente y hasta la actualidad el vector herpes virus de pavos (HVT) es el más usado, debido a que causa una infección persistente que induce una inmunidad protectora larga aun en las

aves de larga vida, además puede expresar múltiples antígenos, dar una respuesta inmunitaria tanto humoral como celular (Perozo *et al.*, 2010; Hein, 2011)

Estas vacunas son seguras debido a que no existe el riesgo de reversión a virulencia y a que las proteínas transgénicas producidas son menos susceptibles a la inactivación por los anticuerpos maternos anti-IBDV, además de otras ventajas como: ser solo una dosis, tener la posibilidad de ser utilizadas *in ovo* y diferenciar los animales infectados y vacunados (Etienne, 2002; Ashraf, 2005; Fribourg S. 2010; Perozo *et al.*, 2010).

Si bien esta tecnología tiene muchas ventajas, también tiene puntos débiles, como que estas vacunas solo utilizan la VP2 que desempeña un papel importante, pero no exclusivo, en la virulencia del virus, por lo que es necesario realizar estudios complementarios para su incorporación en los actuales programas de vacunación (Sjaak, 2006).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **1. MATERIALES**

##### ***1.1 Lugar de estudio***

- Crianza: En el modulo experimental del laboratorio de Patología Aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

- Necropsia, toma de muestra y examen serológico: En el Laboratorio de Patología Aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

- Exámenes histopatológicos: En el Laboratorio de Histología, Embriología y Patología Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

##### ***1.2 Animales***

Se emplearon 100 pollitas BB de postura comercial de un día de edad de la línea Hy-Line Brown, procedentes de un lote de reproductoras libre de enfermedades.

##### ***1.3 Alimento y agua***

Se administró alimento de acuerdo a la edad y agua *ad libitum*, cubriendo requerimientos nutricionales utilizando alimento concentrado comercial.



#### ***1.4 Vacunas:***

La vacuna comercial Farmune®, es una vacuna vectorizada trivalente que usa como vector al virus HVT de la enfermedad de Marek y que contiene las fracciones antigénicas de los virus de la Laringotraqueitis infecciosa aviar y de la enfermedad de Gumboro (VP2).

#### ***1.5 Cepa de desafío***

La cepa de desafío que se utilizó durante el estudio fue una cepa clásica del virus de Gumboro F52/70 |

#### ***1.6 Equipo y materiales para la crianza***

- Baterías metálicas
- Comederos tipo canaleta metálicos
- Bebederos tipo tongo de plástico.
- Bebederos tipo canaleta de metal.
- Termómetros digitales.
- Balanza mecánica marca Ohaus
- Equipo de necropsia (bisturí, tijeras, pinzas).
- Equipo de limpieza y desinfección (escobas, escobillas, etc).
- Mochila de desinfección

#### ***1.7 Equipo y materiales para la toma y evaluación de muestras***

##### **Equipos:**

- Computadora
- Microscopio

##### **Materiales para evaluación macroscópica:**

- Equipo de disección
- Frascos de boca ancha con tapa y etiquetados
- Frascos de vidrio para muestras de sangre

- Formol bufferado
- Guantes estériles
- Balanza eléctrica marca Mettler, para el peso de las Bursas.
- Balanza mecánica marca Ohaus, para el peso corporal

**Materiales para evaluación histopatológica:**

- Frascos de boca ancha con tapa
- Formol al 10%
- Microscopio de luz
- Parafina en escamas
- Alcoholes etílicos al 100%, 95% y 70%
- Xilol
- Colorantes: Hematoxilina de Harris y Eosina
- Láminas portaobjetos y laminillas cubreobjetos
- Micrótopo
- Cuchillas
- Baño María
- Estufa

**Materiales para evaluación serológica:**

- Kit de ELISA competitivo de Laboratorios IDEXX
- Lector de Elisa modelo LX800 Biotek Instruments, Inc
- Computadora
- Software Xchek
- Micropipetas multicanal regulables para 25, 50, 100 y 200 microlitros
- Tips para micropipetas
- Dispensores

**Material fotográfico:**

- Microscopio Zeiss Axiostar Plus
- Cámara fotográfica digital marca Kodak

## 2. MÉTODOS

### 2.1 *Tamaño muestral*

El cálculo de tamaño de muestral para una diferencia de proporciones en dos grupos independientes fue:

P 1 (vacunado) = proporción esperada de muerte en vacunados (0.0)

P 2 (control) = proporción esperada de muerte en no vacunados (0.2)

Poder (0.8)

Nivel de significancia (0.05)

Tamaño mínimo de aves para cada grupo = 44

De acuerdo a esto se usaron 100 pollas de postura divididos en 2 grupos de 50 pollas, criadas en jaulas.

### 2.2 *Diseño experimental*

El estudio comprendió dos grupos de 50 aves cada uno, cada grupo tenían 6 repeticiones de 8 o 9 aves, como se observa en el apéndice 1.

Grupo A: Aves vacunadas con la vacuna vectorizada trivalente (HVT + ILT + IBD) aplicada por vía ocular el primer día de edad y desafiadas a los 35 días de edad con la cepa F52/70 por la ruta ocular.

Grupo B: Aves no vacunadas contra la enfermedad de Gumboro (Control), y desafiadas a los 35 días de edad con la cepa F52/70 por la ruta ocular.

### 2.3 *Cronograma integral de vacunación*

<b>Edad</b>	<b>Grupo A</b>	<b>Grupo B</b>
1 día	Newcastle + Bronquitis (Aspersión)	
	Vacuna vectorizada trivalente (HVT + ILT + IBD)	Sin Vacuna

#### *2.4 Cronograma de actividades a lo largo del estudio*

<b>Grupo</b>	<b>A</b>	<b>B</b>
<b>N° de aves</b>	<b>50</b>	<b>50</b>
<b>Días</b>	<b>Tratamiento</b>	<b>Control</b>
1	Evaluación serológica por ELISA contra el virus de la enfermedad de Gumboro	
35	Evaluación de lesiones macroscópicas y microscópicas ante desafío	
	Evaluación serológica por ELISA contra el virus de la enfermedad de Gumboro	
	<b>DESAFIO:</b> 30 uL ( $10^4$ DIE <sub>50</sub> ) de una cepa clásica F52/70 vía ocular	
38	Evaluación de lesiones macroscópicas y microscópicas post desafío	
41	Evaluación de lesiones macroscópicas y microscópicas post desafío	
49	Evaluación de lesiones macroscópicas y microscópicas post desafío	
	Evaluación serológica por ELISA contra el virus de la enfermedad de Gumboro	

#### *2.5 Desafío experimental*

Al día 35 de edad todas las aves fueron desafiadas con la cepa F52/70 vía ocular con un título de  $10^4$  DIE<sub>50</sub> (30 µl/dosis).

#### *2.6 Parámetros de evaluación*

##### *2.6.1 Signos clínicos y mortalidad*

Posterior al desafío las aves fueron examinadas clínicamente durante 14 días registrándose la mortalidad, depresión, diarrea y cualquier otro signo clínico. A las aves muertas se les realizó la necropsia para determinar la causa de muerte.

### **2.6.2 Evaluación de las lesiones macroscópicas y microscópicas**

Para la evaluación de lesiones macro y microscópicas, fueron sacrificadas 5 aves por grupo a los 35, 38, 41, 49 días de edad; en todos los casos se registraron y fotografiaron las lesiones macroscópicas y microscópicas encontradas.

Con los valores de peso corporal y peso de bursa se determinó el índice bursal.

#### **2.6.2.1 Índice bursal (IB)**

Determina la proporción del peso de la Bursa de Fabricio con respecto al peso corporal, el cual es empleado para determinar la presencia o no de atrofia de la Bursa de Fabricio (Giambrone; 1987).

La fórmula es:

$$\frac{\text{Peso de la bursa (grs)} \times 1000}{\text{Peso corporal (grs)}}$$

El Índice Bursal obtenido fue clasificado de la siguiente manera:

1.5 – 3.5 = Bursa Normal

0.5 – 1.5 = Atrofia Bursal

≤ a 0.5 = Severa Atrofia Bursal

#### **2.6.2.2 Procedimiento de evaluación de las lesiones microscópicas**

Las Bursas de las aves colectadas fueron fijadas en formol al 10%, luego fueron procesadas, teñidas con Hematoxilina – Eosina y examinadas al microscopio de luz. La evaluación se realizó mediante un sistema de valoración cualitativa de las lesiones de la bursa a nivel del epitelio de las plicas, folículos linfoides y tejido conectivo; con una calificación de daño bursal de 1 a 4 (Skeeles, 2001), según lo siguiente:

**Grado 1** = No se observan lesiones. Las estructuras como el epitelio de revestimiento, la lámina propia, folículos linfoides y el tejido interfolicular.

**Grado 2** = Se observa infiltración focal o difusa de heterófilos en lamina propia y el tejido interfolicular, disgregación de linfocitos interfolicular (edema), disminución leve de linfocitos.

**Grado 3** = Incluye las lesiones de grado 2, además se aprecia necrosis en la zona medular de los folículos y disminución de linfocitos en la zona de la corteza.

**Grado 4** = Se aprecia lesiones de grado 3, además una marcada disminución de linfocitos, franca necrosis en medula, formación de quistes en los folículos linfoides e incremento en el tejido interfolicular.

El valor final de las lesiones bursales se obtendrá sacando el promedio de las calificaciones de las Bursas evaluadas.

### ***2.6.3 Evaluación Serológica***

Se colectaron muestras de sangre vía punción alar para la evaluación de los títulos de anticuerpos contra el virus de la Enfermedad de Gumboro en 15 aves por grupo, al día 1, 35, y 49 de edad, usando el kit de ELISA de Laboratorios IDEXX y el lector de Elisa modelo LX800 Biotek Instruments, Inc, las lecturas se realizaron usando el Software Xchek, exclusivo de la empresa IDEXX. Se evaluó la inmunidad maternal (al primer día de edad), la respuesta inmune a la vacunación (al 35 día) y los títulos post desafío (49 días de edad).

### ***2.6.4 Parámetros productivos***

El virus de Gumboro además de edema y atrofia de la bursa, ocasiona diarrea pudiendo afectar el peso corporal, por tal razón se registraron el peso corporal, uniformidad e índice de conversión alimenticia semanalmente.

### ***2.6.5 Análisis Estadístico***

Para el análisis estadístico de variables se utilizó el programa estadístico Stata 14.0 (College Station TX).

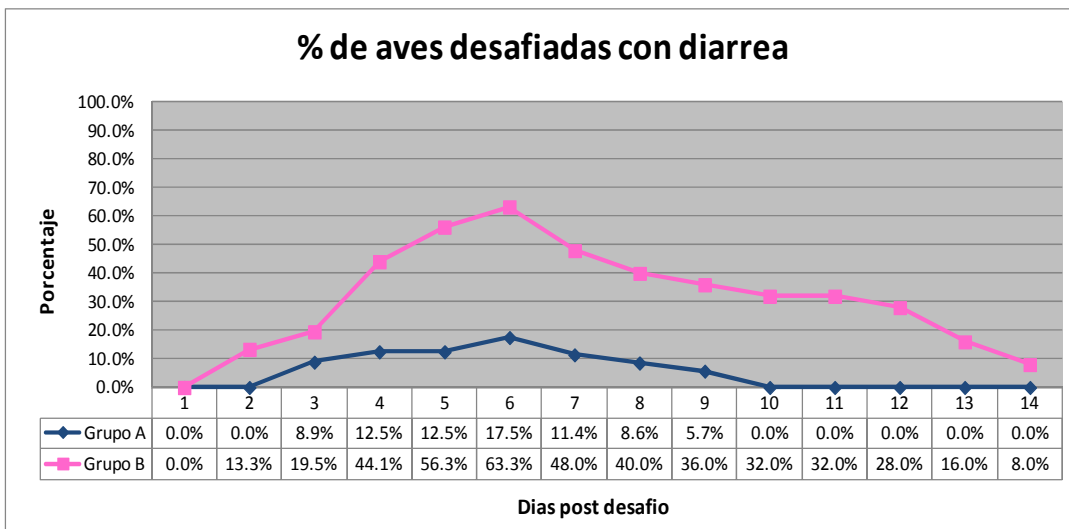
Se realizó la prueba de Fisher Exacta para determinar diferencia estadísticamente significativa para las variables de signos clínicos (diarrea y depresión) y mortalidad, para las variables de índice bursal, niveles de anticuerpos y parámetros productivos se realizó la prueba de T Student y para la evaluación de las lesiones histopatológicas de bursa, se realizó la prueba de U Mann Whitney.

## **IV. RESULTADOS**

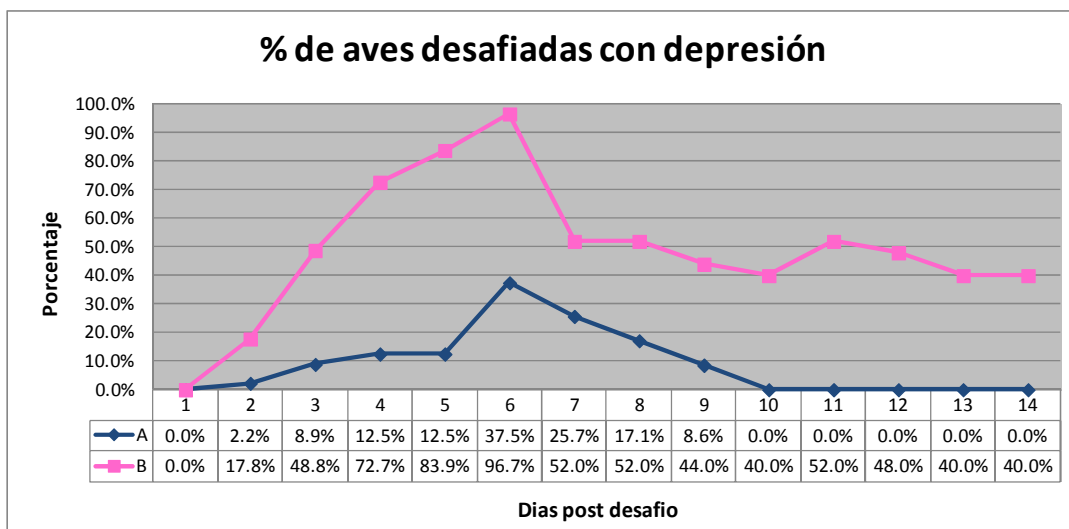
### **1. SIGNOS CLÍNICOS**

En el post desafío a partir de los 35 días de edad, los signos de la forma clínica de infección bursal se presentaron a partir del 2do al 14avo d.p.d (día post desafío) en las aves de los dos grupos (vacunado y control), siendo más severos y de mayor duración en el grupo B (control) que en el grupo A (vacunado). Los principales signos se caracterizaron por diarreas acuosas blanquecinas y depresión, como se observa en el Apéndice 2.

La recuperación de las aves inició a partir del día 6 posterior al desafío, las aves del grupo A se recuperaron totalmente al día 10 días post desafío, no observándose a esta edad ningún signo clínico, en comparación al grupo B en el cual la recuperación fue luego de la última evaluación realizada a los 14 días post desafío. La cronología de los signos se detalla en las gráficas 1 y 2.



**Gráfica 1.- Porcentaje de animales que presentaron diarrea hasta los 14 días post desafío**



**Gráfica 2.- Porcentaje de animales que presentaron depresión hasta los 14 días post desafío**



## 2. MORTALIDAD

Después del desafío las aves del grupo control presentaron una mortalidad a partir del segundo d.p.d hasta el quinto d.p.d. acumulando una mortalidad total de 33.3% (15 aves). Las aves del grupo A no presentaron mortalidad. La viabilidad de ambos grupos se presenta en el Cuadro 1.

**Cuadro 1. Porcentaje de viabilidad post desafío de ambos grupos**

Grupo		Días post desafío					
		1	2	3	4	5	6
A	Aves muertas	0	0	0	0	0	0
	% viabilidad	100%	100%	100%	100%	100%	100%
B	Aves muertas	0	4	5	4	2	0
	% viabilidad	100%	91.1%	80.0%	71.1%	66.7%	66.7%

## 3. LESIONES MACROSCÓPICAS

La evaluación macroscópica de las Bursas se realizó en 5 aves sacrificadas, el día del reto (35 días), y a los 3, 6 y 14 d.p.d (38, 41, 49 días de edad respectivamente). Las lesiones post desafío observadas principalmente fueron edema y atrofia de la bursa, estas fueron severas y en mayor porcentaje de aves en el grupo B (control) y leves en el grupo A (vacunado). En las aves sacrificadas a los 3 d.p.d, el grupo A (vacunado) evidenció 60% de aves con edema de la bursa, mientras que el grupo B (control) 80%. En las aves sacrificadas a los 6 d.p.d, en ambos grupos se observaron aves con edema de la bursa en un 40%. A los 14 días post desafío no se observó edema en ninguna de las aves de ambos grupos, la frecuencia de aves con edema se detalla en el cuadro 2.

Las aves muertas del grupo B (control) en los primeros 6 días post desafío, mostraron hemorragia bursal y material caseoso en el interior de la bursa, así como las otras lesiones características de la forma clínica de la enfermedad de Gumboro (hemorragias musculares en muslos, necrosis hepática y uratosis renal, como se observa en el apéndice 5). El grupo A no presentó mortalidad, en el cuadro 3 se detalla las lesiones causadas por el virus del desafío.

**Cuadro 2. Frecuencia de aves con edema en Bursa de Fabricio post desafío en aves sacrificadas**

Grupo	Días post desafío		
	Edema		
	3	6	14
<b>A</b>	3/5	2/5	0/5
<b>B</b>	4/5	2/5	0/5

**Cuadro 3. Frecuencia de aves con lesiones de Gumboro en aves muertas por post desafío**

Lesiones	Días post desafío					
	1	2	3	4	5	6
Edema	0/0	3/4	4/5	3/4	2/2	0/0
Hemorragia bursal	0/0	2/4	2/5	1/4	0/2	0/0
Hemorragias musculares	0/0	2/4	2/5	1/4	0/2	0/0
Contenido caseoso en bursa	0/0	1/4	0/5	0/4	0/2	0/0

#### **4. ÍNDICE BURSAL (IB)**

Según la clasificación de índice bursal realizado por Giambrone en 1987, se observó que a los 35 días de edad, antes del desafío, el valor del Índice Bursal promedio indicó ausencia de atrofia en ambos grupos experimentales, el grupo A (3.58) y el grupo B (3.42), tal como se observa en el cuadro 4.

La ausencia de atrofia bursal se evidenció también en la evaluación realizada al día 3 post desafío en ambos grupos. En la evaluación realizada al día 6 post desafío, se observó en el grupo A una disminución del índice bursal promedio (1.71), no considerada dentro de la clasificación como atrofia bursal, por otra parte en el grupo B se observó atrofia bursal ya que el índice promedio fue de 1.38 (<1.5 según la clasificación descrita por Giambrone). Para el día 14 post desafío solo las

aves del grupo B presentaron valores dentro del rango de atrofia bursal siendo el valor del índice bursal de 0.99 en comparación al grupo A cuyo índice fue de 1.58, esto se observa en el cuadro 4.

En las dos primeras evaluaciones (0 y 3 d.p.d) no se encontró diferencia significativa entre los dos grupos. Durante los días 6 y 14 d.p.d los valores promedio de índice fueron mayores en las aves vacunadas (grupo A) que en las aves no vacunadas (grupo B), siendo estas diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

**Cuadro 4. Promedio de Índice bursal y numero de aves con atrofia bursal hasta los 14 días post desafío**

Grupos	Edad post desafío							
	Índice bursal				Atrofia			
	0	3	6	14	0	3	6	14
<b>A</b>	3.58 <sup>a</sup>	3.01 <sup>a</sup>	1.71 <sup>a</sup>	1.58 <sup>a</sup>	0/5	0/5	1/5	2/5
<b>B</b>	3.42 <sup>a</sup>	2.89 <sup>a</sup>	<b>1.38<sup>b</sup></b>	<b>0.99<sup>b</sup></b>	0/5	0/5	4/5	5/5

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0.05$ )

## 5. LESIONES MICROSCÓPICAS

En la evaluación histopatológica de bursa de Fabricio, antes del desafío, a los 35 días de edad, las aves de ambos grupos presentaron calificaciones no mayores a un grado 2.0. Al tercer día post desafío las lesiones de bursa del grupo A fueron de grado 1.8 y las del grupo B de 3.6, evidenciándose en este último grupo, lesiones de depleción linfoide moderada a severa, zonas de necrosis e infiltración de heterófilos y macrófagos, y edema intersticial, como se detalla en el cuadro 5 y apéndice 6. Al sexto día post desafío el grupo A mantuvo un grado promedio bajo de lesión (1.6), en comparación con el grupo B, el cual mantuvo un grado promedio alto de lesión (3.4) con lesiones similares a las observadas en el examen histopatológico al tercer día post desafío, notándose además presencia de formaciones quísticas en diversos folículos. En la evaluación realizada a los 14 días post desafío, el grupo A obtuvo un grado promedio de lesión de 2.0 en comparación al grupo B, con un grado promedio de 2.8.

Las lesiones en Bursas fueron en general menores en las aves vacunadas (grupo A) que en las aves control no vacunadas (grupo B), siendo estas diferencias estadísticamente significativas durante los días 3 ( $p=0.0132$ ) y 6 ( $p=0.0071$ ) post-desafío.

**Cuadro 5. Calificación promedio de lesiones histopatológicas en Bursas de Fabricio**

Grupo	Edad			
	Pre desafío (35 días)	Días post desafío		
		3	6	14
A	2.0 <sup>a</sup>	1.8 <sup>a</sup>	1.6 <sup>a</sup>	2.0 <sup>a</sup>
B	1.8 <sup>a</sup>	3.6 <sup>b</sup>	3.4 <sup>b</sup>	2.8 <sup>a</sup>

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p<0.05$ )

## 6. RESPUESTA SEROLÓGICA

El promedio de los títulos de anticuerpos al primer día de edad en los dos grupos, previo a la vacunación, presentaron resultados similares, el grupo A obtuvo un PGT de 2190 con un coeficiente de variación de 32.9% y el grupo B obtuvo un PGT 2159 con un coeficiente de variación de 24.5%, indicando un moderado nivel de anticuerpos maternos y una buena uniformidad del lote.

Al día 35 de edad (día del desafío), los anticuerpos de las aves del grupo A (vacunado) disminuyeron a valores de 369 como promedio y aumento el coeficiente de variación a 56.4%, siendo mayores a comparación del grupo B, los cuales no presentaron anticuerpos a esta edad. A los 49 de edad (14 d.p.d), ambos grupos (A y B) tuvieron un aumento en los niveles de anticuerpos a 5095 y a 4920 con una disminución del CV de 23.2% y 25.3% respectivamente, como se observa en el cuadro 6.

No se encontró diferencia estadística significativa en títulos de anticuerpos entre el grupo A y el grupo B, al 1 y 49 días de edad, pero si se encontró diferencia a los 35 días de edad ( $p<0.05$ ; mediante T Student test).

**Cuadro 6: Títulos de anticuerpos (PGT) por ELISA a los 35 días de edad**

Desafío	Edad (Días)		Grupo	
			A (vacunado)	B (control)
Antes del desafío	1	PGT	2190 <sup>a</sup>	2159 <sup>a</sup>
		CV%	32.9	24.5
	35	PGT	369 <sup>a</sup>	139 <sup>b</sup>
		CV%	56.4	71.9
Después del desafío	49	PGT	5095 <sup>a</sup>	4920 <sup>a</sup>
		CV%	23.2	25.3

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0.05$ )

PGT: Promedio geométrico de título

CV: Coeficiente de variación

## 7. PARÁMETROS PRODUCTIVOS

Previo al desafío durante las cinco semanas de crianza, los pesos corporales fueron similares para ambos grupos, teniendo el grupo B un ligero mayor peso corporal durante este periodo de tiempo; los índices de conversión alimenticia y la uniformidad también fueron similares en ambos grupos durante este tiempo, como se observa en el cuadro 7.

**Cuadro 7. Peso Corporal, uniformidad e I.C.A semanal de aves antes del desafío**

Edad		Peso Corporal		Uniformidad		I.C.A	
Semanas	Días	Grupo A	Grupo B	Grupo A	Grupo B	Grupo A	Grupo B
0	1	36.8	37.2	82.3%	84.7%		
1	7	67.3	68.6	88.1%	89.9%	1.04	1.02
2	14	110.5	120.5	89.7%	91.3%	1.77	1.62
3	21	173.6	178.4	91.6%	91.6%	1.99	1.93
4	28	243.3	248.6	92.5%	93.1%	2.18	2.13
5	35	336.7	338.3	93.4%	93.7%	2.20	2.19

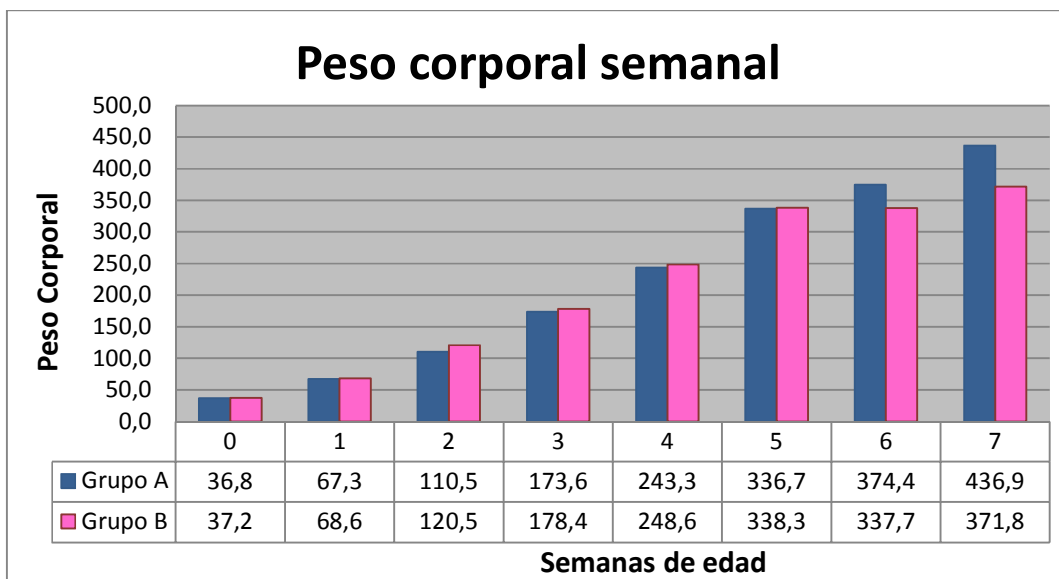
Durante el periodo de desafío (desde los 35 días hasta los 49 días de edad), la ganancia de peso del grupo A fue mayor que del grupo B, como se detalla en el cuadro 8.

**Cuadro 8. Peso corporal promedio (antes y después del desafío)  
y Ganancia de peso a los 14 días post desafío**

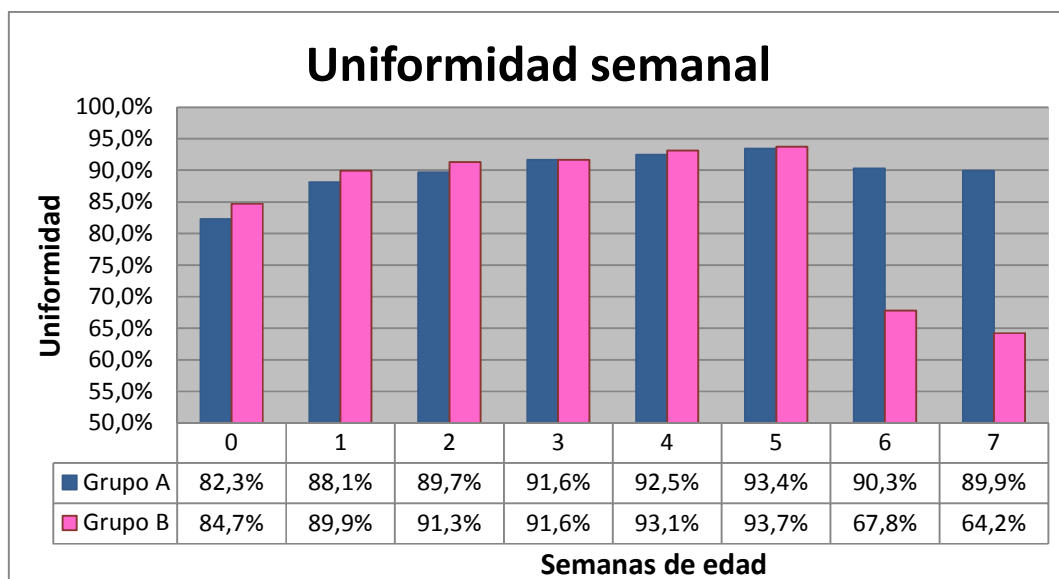
<b>Grupo</b>	<b>Peso Promedio Antes del desafío</b>	<b>Peso Promedio Fin del desafío</b>	<b>Ganancia de Peso durante el desafío</b>
A	336.7	436.9	100.2
B	338.3	371.8	33.5

A la semana 0 (inicio del estudio), los pesos promedio fueron similares en ambos grupos, siendo estadísticamente similares ( $p=0.7230$  mediante T Student test). Durante las semanas 1 a 5, los pesos fueron similares entre ambos grupos, mientras que a partir de la semana 6 el peso promedio resulto mucho mayor en las aves vacunadas (grupo A) que en aves control (grupo B), encontrándose en peso promedio a la semana 7 diferencia estadísticamente significativa ( $p<0.001$ ; mediante T Student test) entre el grupo A y B.

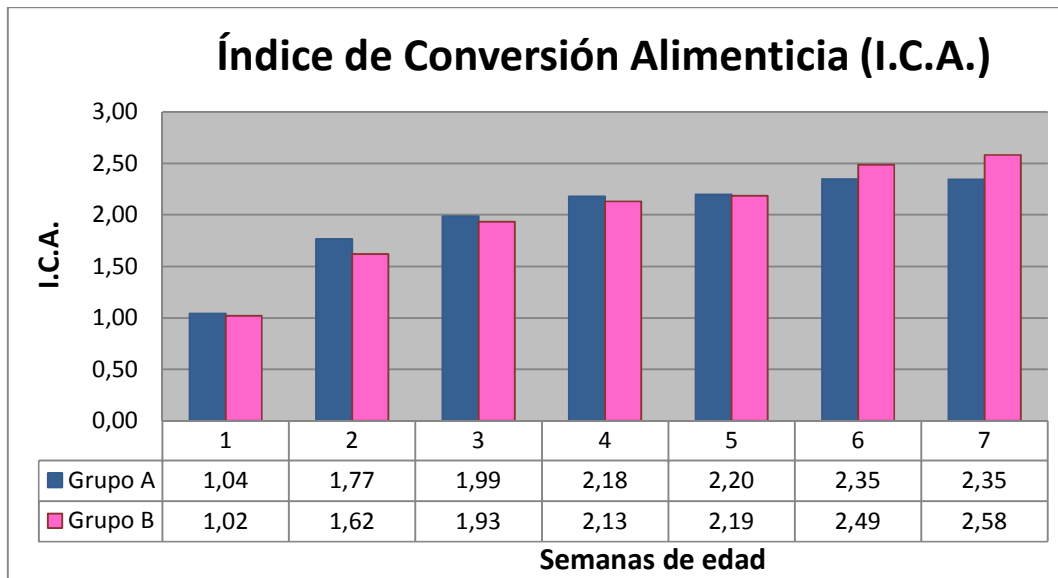
Al final del estudio (49 días de edad), las aves del grupo A mantuvieron buena uniformidad e I.C.A en comparación al grupo B control, tal como se muestra en las graficas 3, 4 y 5.



**Grafica 3. Peso corporal semanal de aves durante todo el estudio**



**Grafica 4. Uniformidad de aves durante todo el estudio**



**Grafica 5. I.C.A. de aves durante todo el estudio**



## V. DISCUSIÓN

Sin dejar de lado las practicas de bioseguridad, la prevención contra la enfermedad de Gumboro en aves ponedoras comerciales se basa principalmente en la vacunación, la que generalmente se realiza en campo, donde es difícil lograr una adecuada protección, debido a que la administración masiva de la vacuna no siempre da los resultados esperados; se conoce que la vida media de los anticuerpos maternos en ponedoras dura de 5 a 5.5 días, siendo esta de mayor duración que en pollos de engorde que es 3 a 3.5 días (de Wit, 2001), por tal motivo, la definición del momento oportuno para calcular la edad de vacunación no es fácil, debido a la interferencia que ejercen los anticuerpos maternos sobre la vacuna viva, sin embargo la interferencia varía dependiendo de la virulencia de la cepa vacunal usada (Banda, 2011), es por ello que las vacunas vectorizadas constituyen una buena opción para evitar los riesgos de la vacunación en campo.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la protección conferida por una vacuna comercial vectorizada trivalente que usa como vector el virus HVT de la Enfermedad de Marek y contiene fracciones antigénicas de los virus de la Laringotraqueitis Infecciosa Aviar y la Enfermedad de Gumboro, en pollas de postura comercial, la evaluación se realizó ante un desafío experimental con la cepa clásica F52/70 del virus de Gumboro. Para este objetivo las variables más importantes en la evaluación de la protección fueron la mortalidad, daño bursal y parámetros productivos.

De acuerdo a los resultados del estudio, las aves del grupo A (vacunado) no presentaron mortalidad a lo largo del experimento, Peroso y col en el 2009 y en 2010 reportaron resultados similares probando una vacuna vectorizada de HVT+VP2 similar a la usada en este estudio, pero

utilizando aves SPF y pollos de engorde, además de realizar el desafío no solo con cepas clásicas sino también con variantes, en dicho estudio las aves vacunadas no presentaron mortalidad; iguales resultados también fueron obtenidos por Leon (2008) usando un programa vacunal contra la enfermedad de Gumboro con vacunas convencionales que tienen el virus completo en pollas de postura comercial.

Posterior al desafío las aves del grupo B que no recibió la vacuna (control), presentaron una mortalidad de 33.3%, contrariamente las aves del grupo A vacunado y desafiado que no presentaron mortalidad. Saif en 2003 reportó altos porcentajes de mortalidad en ponedoras no vacunadas. Van der Berg en 1991 considera el criterio de mortalidad en pollas de postura como un criterio absoluto para medir la efectividad de las vacunas, mientras que en broilers lo considera relativo, además menciona que la mortalidad es mayor en pollas de postura que en broilers debido a una mayor susceptibilidad por su genética y por ser aves de crecimiento lento, pudiendo alcanzar hasta un 60 % de mortalidad, esta susceptibilidad también lo mencionan otros autores como Nielsen y col (1998) y di Fabio (2006).

Villegas (2001) menciona que los principales signos clínicos de la enfermedad de Gumboro son la diarrea y la depresión, en los dos grupos de aves del estudio estos fueron los signos clínicos que presentaron luego del desafío, sin embargo en el grupo B (control ) se observaron signos severos en comparación al grupo A que fueron leves, en el pico de la enfermedad clínica (5 a 6 días post desafío) se observó 96.7% de depresión y 63.3% de diarrea en el grupo B y 37.5% de depresión y 17.5% de diarrea en el grupo A. Los signos clínicos y la mortalidad comenzaron desde el 2 día post desafío, observándose aves muertas hasta el día 5 post desafío; posterior a los 5 a 6 días post desafío los signos fueron disminuyendo hasta el día 10 en el grupo A y luego de la última evaluación que fue a los 14 días post desafío en el grupo B, este comportamiento concuerda con lo mencionado por Rauw y col (2007) y Eterradossi y Saif (2013).

Las lesiones macroscópicas observadas en las aves fueron edema y atrofia de la bursa de Fabricio, estas lesiones fueron muy severas y en mayor porcentaje de aves en el grupo B (control) en comparación a las del grupo A que fueron muy leves. Los primeros 6 días post desafío las aves del grupo B presentaron edema y hemorragias en bursa de Fabricio con presencia de material caseoso, disminuyendo el número de casos a medida que avanzaban los días, el edema estuvo presente en 80% de aves en el muestreo del día 3 post desafío y 40% en las del día 6 post desafío, a

los 14 d.p.d ya no se observaron lesiones bursales, este comportamiento concuerda con lo mencionado por González (2005), Harris (2010) y Eterradosi y Saif (2013) que mencionan que al segundo o tercer día posterior a la infección la bursa de Fabricio aumenta de tamaño y peso debido al edema e hiperemia y hacia el cuarto día suele tener el doble de su peso y tamaño normal y entonces comienza a decrecer hasta la atrofia. Además las aves muertas durante los primeros 5 días post desafío mostraron otras lesiones características de la enfermedad de Gumboro en un grado severo, las cuales consistieron de hemorragias musculares principalmente en muslos, necrosis hepática y uratosis renal, estas lesiones no fueron observadas en ninguna de las aves vacunadas y sacrificadas durante el estudio; estos resultados concuerdan con los obtenidos por Van Den Berg (2000), Leon (2008), Guadarrama (2009) y Eterradosi y Saif (2013). Se ha señalado que las hemorragias de los músculos que se observan en la forma clínica de la enfermedad de Gumboro en aves mayores a tres semanas de edad, se deben a dos causas: la formación de complejos inmunes por la presencia del antígeno, anticuerpos y complemento, este último no está presente en aves inmunológicamente inmaduras de dos semanas o menos (Eterradosi y Saif (2013) y también como consecuencia de coagulopatias debidas al mayor tiempo de coagulación que presentan las aves mayores a dos semanas (Eterradosi y Saif (2013). En el grupo A, 60% las aves sacrificadas mostraron un ligero edema en la bursa de Fabricio al tercer día post desafío y 40% a los 6 días, a los 14 días post desafío no se observaron lesiones bursales, a lo que podría demostrar que el virus del desafío causó leve daño bursal en las aves vacunadas.

Giambrone en 1986 utilizó el índice bursal como un indicador de atrofia de bursal e indirectamente de inmunocompetencia en las aves. Según el score de lesiones usado en nuestro estudio, el valor promedio del índice bursal del grupo A durante todo el experimento, se mantuvo dentro de los rangos normales (mayor a 1.5), por el contrario el grupo B presentó una disminución del valor promedio del índice bursal, hasta llegar a tener los días 6 y 14 post desafío valores que corresponden con atrofia bursal (1.38 y 0.99 respectivamente). Este resultado evidencia el menor impacto (daño limitado) del desafío sobre las aves del grupo A (vacunado), demostrando que la vacuna usada indujo protección y adecuada inmunocompetencia en las aves del estudio; similares resultados fueron encontrados por Peroso y col en el 2009 y en 2010.

La lesión histopatológica predominante luego del desafío experimental fue necrosis y depleción linfocítica en la bursa, esto concuerda con lo descrito por varios autores como Babaahmady (2005) y González (2005). Antes del desafío a los 35 días de edad, la Bursas de las aves de ambos grupos

presentaron calificaciones no mayores a un grado 2.0 de lesión, que corresponde con una ligera infiltración focal o difusa de heterófilos en lamina propia y el tejido interfolicular, edema y disminución leve de linfocitos, esto podría deberse a que esta prueba determina daño bursal, que no es exclusivo del virus de Gumboro, los factores de stress, presencia de micotoxinas y/o mala calidad de alimentos pueden también causar este daño (San Gabriel A, 1983; Perera y col, 2003; Fariñas F, 2015).

En todas las evaluaciones histopatológicas de bursa realizadas a los 3, 6 y 14 días post desafío, el grupo A obtuvo un grado promedio bajo de lesión bursal ( $\leq 2.0$ ), esto resultados concuerdan con lo observado por Peroso y col en 2009 y en 2010, esto se debe a que el órgano blanco de la vacuna HVT recombinante no es la bursa ni los linfocitos B inmaduros, pues el virus vector es un herpesvirus al que se le insertó el gen que codifica la VP2 de la cepa 52/70 Faragher, la patogenia y patrón de replicación viral es de los herpesvirus, en consecuencia, no se produce daño tisular atribuible a la vacunación como si se observa con las vacunas vivas intermedias e intermedias plus de Gumboro que contienen el virus completo y se replican en las células B inmaduras, ocasionando daño bursal de moderado a severo, lo cual puede causar un deterioro de la capacidad de respuesta inmune del ave, Moraes en 2004 encontró que las vacunas intermedias más patógenas, referidas como cepas “plus” causan una lesión severa de bursa en animales vacunados, lo que resulta en un agotamiento de linfocitos en un 90% aproximadamente.

Por el contrario el grupo B presento un grado promedio alto de lesión a los 3 días post desafío (3.6), donde se observo edema intersticial, moderada a severa depleción linfoide, zonas de necrosis e infiltración de heterófilos y macrófagos, y a los 6 y 14 días post desafío se observo una ligera disminución del grado promedio de lesión, pero aun el promedio de lesión fue alto (3.4 y 2.8 respectivamente), además durante esta etapa se observaron formaciones quísticas en diversos folículos, esto demuestra que las aves de este grupo carecían de protección contra la enfermedad de Gumboro. Este comportamiento concuerda con lo mencionado por Vervelde (1997), Ashraf (2005), Butcher y Miles (2009), Fribourg (2010), Harris (2010), Eterradossi y Saif (2013) que mencionan que desde el primer día posterior a la infección con cepas clásicas del virus de Gumboro ya se observa degeneración y necrosis de linfocitos en el área medular de los folículos linfoides acompañada de picnosis nuclear, y al tercer o cuarto día posterior a la infección una respuesta inflamatoria caracterizada por un edema, infiltración de heterófilos e hiperemia en la bursa, posterior a esto aparecen cavidades quísticas; la bursa puede recuperarse aproximadamente 8 días

después de la infección y comienza a repoblarse de linfocitos en la mayoría de folículos, pero entre 8 y 12 días después de la infección, la bursa es reducida a menos de una cuarta parte de su tamaño original.

La evaluación de la inmunidad humoral por la prueba de ELISA fue a los días 1, 35 y 49 días de edad. El promedio de los títulos de anticuerpos al primer día de edad, previo a la vacunación, fue de 2190 con un coeficiente de variación de 32.9 para el grupo A y 2159 con un coeficiente de variación de 24.5 para el grupo B, indicando un nivel de anticuerpos maternos intermedio y una uniformidad buena, como se esperaba, los anticuerpos maternos estaban presentes al primer día de edad, ya que las reproductoras tienen un programa de vacunas vivas e inactivadas que aseguran la transmisión de anticuerpos a la progenie en cantidad y uniformidad adecuadas (Saif, 2006; Villegas, 2009; Banda, 2011), el nivel de anticuerpos maternos intermedio se podría deber a que las pollitas bb provenían de madres viejas, posiblemente debido a que en las reproductoras el nivel de inmunidad humoral muchas veces disminuye con la edad.

La evaluación serológica a los 35 días de edad fue hecha con la finalidad de evaluar la respuesta inmune activa de las aves a la vacunación y considerando que a esa edad los anticuerpos maternos ya no son detectados debido al catabolismo de los mismos. A los 35 días (antes del desafío) el promedio de los títulos de anticuerpos del grupo A (vacunado) fue de 369 con un CV% de 56.4, mientras que en el grupo B (control) fue de 139 con un CV% de 71.9. En ambos casos los títulos de anticuerpos fueron bajos, sin embargo en el grupo A se detectaron anticuerpos con el título mínimo en 6/15 aves, esto debido a que la vacuna vectorizada usa el vector HVT que induce una respuesta más celular que humoral; en las aves del grupo B (control) no se detectaron anticuerpos. Los resultados de la evaluación serológica del grupo control fueron similares a los obtenidos en otros estudios (Paredes, 2006; Vidal, 2006 y Leon, 2008;). La evaluación serológica a los 14 días post desafío (49 días de edad) mostró un aumento de los anticuerpos en los dos grupos, el grupo A alcanzó un PGT de 5095 con CV% 23.2 y el grupo B de 4920 con un CV% 25.3, evidenciando seroconversión en respuesta al desafío con la cepa patógena 52/70 Faragher.

El peso corporal en aves de postura comercial es muy importante debido a que está relacionado a su óptimo desarrollo y maduración de las pollitas, éstas deben desarrollar un esqueleto y reservas de tejido blando que les permita entrar al proceso de producción y persistir en la postura (Hy-Line, 2013). Con respecto a los parámetros productivos obtenidos en las pollitas de nuestro estudio antes

del desafío, durante las primeras cinco semanas de crianza, los pesos corporales, la uniformidad y el I.C.A. fueron similares en ambos grupos. Durante el periodo de desafío (desde los 35 días hasta los 49 días de edad), la ganancia de peso del grupo A fue mayor que del grupo B, el grupo A obtuvo 66.7g mas de peso corporal que el grupo B (control), terminando el experimento con un peso de 436.9g a comparación del grupo B que termino con 371.8g, esto es debido a que la ganancia de peso corporal del grupo B se vio afectado por los signos clínicos que se presentaron con mayor severidad, por un lado la depresión ocasiona que las aves no consuman alimento y por otro la diarrea provoca perdida de líquidos y tránsito rápido del alimento impidiendo que se aprovechen los nutrientes, por ende que las aves no ganen peso. Si bien no se encontró disponible en la literatura ningún estudio con vacunas vectorizadas de Gumboro en aves de postura, Arteaga en 2013 en un estudio sin desafío experimental, obtuvo mayor peso corporal en pollos de engorde con un vacuna vectorizada que con un programa convencional con vacunas intermedias, señalando que la mayor ganancia de peso fue debido a que al aplicar solamente una vez la vacuna vectorizada, se evita el estrés de manejo, lo que si ocurre con el programa convencional que requería dos aplicaciones.

Respecto a la uniformidad de las aves, las aves del grupo B antes del desafío tenían una uniformidad de 93.7% y al final del experimento 64.2%, esta caída de uniformidad fue ocasionada por la amplitud de la variabilidad de los pesos corporales de las aves debido a que la ganancia de peso corporal se afectó drásticamente después del desafío. Contrariamente las aves del grupo A terminaron el estudio con una optimo porcentaje de uniformidad (89.9%), por encima del estándar indicado en la guía de manejo de la línea genética (ponedoras comerciales hy-line Brown 2016) en donde se menciona que la uniformidad a las 7 semanas de edad debe ser mayor a 85%. Parra en 2017, menciona que la uniformidad y dispersión de pesos son muy importantes, porque hacen más predecible el efecto del consumo de alimento en un lote de aves, cuando las parvadas son altamente desuniformes, se genera alta competencia entre los individuos y por selección natural, las aves más grandes consumirán más alimento y las livianas menos, haciendo imposible un control eficaz de los peso y posteriormente de producción.

Al termino del estudio las aves del grupo A (vacunado) obtuvieron la mayor ganancia de peso, uniformidad y mejor I.C.A en comparación al grupo B, mostrando estar protegidas de la enfermedad clínica y de la afectación de los parámetros productivos ocasionados con el desafío por la cepa patogénica en el grupo control no vacunado.

## VI. CONCLUSIONES

- Los resultados de la evaluación de la vacuna trivalente vectorizada (HVT-IBD-ILT) aplicada al primer día de edad en pollas de postura comercial, demostraron que la vacuna protegió a las aves eficientemente de la forma clínica de enfermedad de Gumboro, al haberse obtenido una viabilidad de 100%, signos clínicos y lesiones macro y microscópicas de grado leve así como por no presentar atrofia bursal después del desafío con la cepa clásica F52/70 del virus de Gumboro, mientras que el grupo control no vacunado presentó una mortalidad por Gumboro clínico de 33,3%, severos signos clínicos, lesiones macroscópicas, microscópicas y valores de índice bursal que llegaron al grado de atrofia.
- La protección vacunal se vio también reflejada en mejores parámetros productivos, peso corporal (436 vs 371g), uniformidad (89.9% vs 67%) e ICA (2.35 vs 2.58), obtenidos en las aves vacunadas vs las no vacunadas, respectivamente.

## VII. BIBLIOGRAFÍA CITADA

1. Ashraf S. 2005. Studies on Infectious Bursal Disease Virus. Tesis de doctor of philosophy. Ohio-U.S.A: The Ohio State University. 1-118p
2. Artega F, Narváez G, Sánchez Z. 2013. Influencia de una vacuna vectorizada (Marek-Gumboro) en pollos de la línea genética Cobb 500. ESPAMCIENCIA 4 (Suppl.2): 83-89.
3. Babaahmady E. 2005. Enfermedad de Gumboro. Histopatología de la Bursa de Fabricio en la enfermedad natural y experimental en pollos de engorde. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET 6 (Suppl.3): 1-8.
4. Banda A. 2006. Situación global del IBD. El libro blanco de la enfermedad de Gumboro. Unidad de avicultura de laboratorios Hipra SA. 15-18p
5. Banda A. 2009a. Aplicación práctica de las técnicas moleculares en el diagnóstico de enfermedades inmunodepresoras en avicultura. En: ANECA 2009. México. Asociación nacional de especialistas en ciencias avícolas de México.
6. Banda A. 2009b. Infectious Bursal Disease Virus strains for vaccination and inactivated bursal tissue origin vaccines. Avian insight Lohmann Animal Health. 1-3p
7. Banda A. 2011. Aspectos esenciales para el control de la enfermedad de Gumboro. Programa de vacunación. Tipos de vacunas y vías de aplicación. En: AMEVEA 2011. Perú. Asociación de médicos veterinarios especialistas en aves.
8. Alva B, Icochea E, Gardin Y, Palya V, Catro-pozo X, Cruz P. 2008. First detection of very virulent form of Bursal Disease Virus (vvIBDV) in Perú. En: AAAP Animal Science Congress. New Orleans. American Association of Avian Pathologists.
9. Borne P, Comte S. 2003. Vacinação. Vacinas e Vacinação na produção avícola. CEVA Sante Animale. 2-4p



10. Butcher G, Miles R. 2009. Infectious Bursal Disease (Gumboro) in commercial broilers. UF/IFAS extension. Series of the veterinary medicine - large animal clinical sciences department. 2p
11. Butcher G, Miles R. 2015. The avian immune system. UF/IFAS extension. Series of the veterinary medicine - large animal clinical sciences department. 2p
12. Carballeda J, Zoth S, Gómez E, Gravisaco M, Berinstein A. 2011. Activation of the immune response against Infectious Bursal Disease Virus after intramuscular inoculation of an intermediate strain. *Immunobiology* 216 (Suppl.9): 1028-1033.
13. Castro-Pozo X. 1994. Evaluación de parámetros productivos y respuesta inmune en pollos de engorde vacunados con dos programas de vacunación contra la enfermedad de Gumboro. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 28p
14. Davison F, Kaspers B, Schat K. 2008. *Avian Immunology*. 1ª ed. Oxford: Elsevier Ltd. 3p.
15. De Wit J. 2001. Gumboro disease: estimation of optimal time of vaccination by the Deventer formula. En: *Proceedings of the 3rd meeting of working group*. Kingston:
16. Di Fábio, J. 2006. Situación de la enfermedad de Gumboro en Brasil. *El libro blanco de la Enfermedad de Gumboro*. Unidad de avicultura de laboratorios Hipra SA. 71-74p.
17. Eterradosi N, Saif Y. 2013. Infectious Bursal Disease. En: Saif Y (ed). *Diseases of poultry*. 13th ed. USA: Iowa State Press. p 219-246.
18. Etienne F. 2002. Strategies de prevention de la Maladie de Gumboro dans les elevages semi-industriels de la región de Dakar, Senegal. Tesis de Médico Veterinario. Toulouse - Francia: Universidad Paul Sabatier. 1-82p
19. Falcón R, Rivera H, Santillán G, Manchego A, Alba M, Icochea E. 1998. Brote de la Enfermedad de Gumboro en aves de postura comercial. *Rev. Inv. Pec. IVITA* 9 (suppl.1): 81-84.
20. Fariñas F. 2015. Funcionamiento del sistema inmune del ave. En: *LII Simposio Científico de Avicultura 2015 - AECA - WPSA*. Malaga: Asociación de española de ciencia avícola.
21. Fribourg S. 2010. Respuesta inmunológica al virus de la enfermedad infecciosa de la bursa. *Revista Electrónica SIRIVS* [Internet], [20 noviembre 2010]. Disponible: [http://veterinaria.unmsm.edu.pe/files/Articulo\\_fribourg\\_Final.pdf](http://veterinaria.unmsm.edu.pe/files/Articulo_fribourg_Final.pdf)
22. Garriga D. 2009. Anàlisi estructural de partícules i proteïnes del virus de la Bursitis Infecciosa. Tesis de Doctorado. Barcelona: Univ. Pompeu Fabra. 1-108p

23. Gardin Y, Palya V, Cazaban C, Lozano F, Alva B, Attrache J, Moore K. 2011. Vaccines and vaccinations against Gumboro disease: the key points. En: Congreso Latinoamericano de Avicultura. Buenos Aires: Asociación Latinoamericana de Avicultura.
24. Ghafari S, Seyfiabad M, Moatamedi H, Roayaei M y Goudarzi H. 2010. Cloning and secretory expression of VP2 gene of Infectious Bursal Disease Virus in eukaryotic cells. *Iranian Journal of Veterinary Research* 11(Suppl.30): 107-112
25. Giambrone J, Clay R. 1986. Evaluation of the immunogenicity, stability, pathogenicity and immunodepressive potential of four commercial live Infectious Bursal Disease vaccines. *Poultry science* 65 (Suppl.7): 1287-1290.
26. Giambrone J. 1987. Evaluación y relaciones morfométricas en la Enfermedad Infecciosa de la Bursa como método de diagnóstico. Georgia: The American Association of Avian Pathology. 24-38p.
27. González R. 2005. Frecuencia y caracterización de lesiones anatomopatológicas en la enfermedad de Gumboro y enfermedades secundarias asociadas en nuestras condiciones ambientales. Estudio retrospectivo. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET* 6 (Suppl.10): 1-8
28. Guadarrama A, Castellanos L, Cubillas C. 2009. Comparación de la inmunidad conferida por una vacuna de infección de la bolsa de Fabricio entre las estirpes Hy-line e Isa Brown. En: ANECA 2009. México: Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas de México.
29. Hair-Bejo M. 2004. Day old vaccination against Infectious Bursal Disease in broiler chickens. *International Journal of Poultry Science* 3 (suppl.2): 124-128.
30. Harris J. 2010. Characterization of infectious bursal disease viruses isolated from commercial chickens. Tesis Doctoral. Delaware: University of Delaware. 10-90p
31. Hein R. 2011. Issues of the poultry recombinant viral vector vaccines with may cause a negative effect on the economic benefits of those vaccines. En: XVII WVPA Congress. Cancun: World Veterinary Poultry Association.
32. Hy-Line. 2013. Gestión de la ponedora comercial Hy-Line W-36 en un solo ciclo de postura. [Internet], [10 de Setiembre 2013]. Disponible en: <http://www.elsitioavicola.com/articulos/2440/gestian-de-la-ponedora-comercial-hyline-w36-en-un-solo-ciclo-de-postura/>
33. Jackwood D. 2005. The role of vaccination on the control of Infectious Bursal Disease viruses. En: Northeastern Conference on Avian Diseases. New York: Veterinary Teaching Center, Cornell University College of Veterinary Medicine.

34. Jackwood D. 2009. Current status of Infectious Bursal Disease. En: ANECA 2009. México. Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas de México.
35. Kegne T, Chanie M. 2014. Review on the incidence and pathology of Infectious Bursal Disease. *British Journal of Poultry Sciences* 3(Suppl.3): 68-77.
36. Ledesma N. 2011. Diagnostico de inmudepresión en aves. En: Congreso anual AVECAO. Jalisco-México. Asociación de veterinarios especialistas en ciencias avícolas de occidente.
37. León N. 2008. Evaluación de los niveles de protección de una vacuna intermedia contra la Enfermedad de Gumboro en pollos de postura. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 1-35p
38. Maas R, Venema S, Kant A, Oei H, Claassen I. 2004. Quantification of Infectious Bursal Disease viral proteins 2 and 3 in inactivated vaccines as an indicator of serological response and measure of potency. *Avian Pathology* 33 (Suppl.2): 126 - 132.
39. McIlroy S, Goodall E, McCracken R. 1989. Economic effects of subclinical infectious bursal disease on broiler production. *Avian Pathology* 18 (Suppl.3): 465 - 480.
40. Moraes H, Salle C, Padilha A, Nascimento V, Souza G, Pereira R, Salle F. 2004. Infectious Bursal Disease: evaluation of pathogenicity of commercial vaccines from Brazil in specific pathogen free chickens. *Revista Brasileira de Ciência Avícola* 6 (Suppl.4): 243-247.
41. Nielsen O, Sørensen P, Hedemand J, Laursen S, Jørgensen P. 1998. Inflammatory response of different chicken lines and B haplotypes to infection with infectious bursal disease virus. *Avian Pathology* 27(Suppl.2): 181-189.
42. Nilipour A. 2006. Como eliminar Gumboro, una experiencia de campo. El libro blanco de la Enfermedad de Gumboro. Unidad de Avicultura de Laboratorios Hipra SA. 75 - 85p
43. Paredes W. 2006. Evaluación de la protección conferida por un programa de vacunación contra la enfermedad de Gumboro en pollos de carne aplicando la fórmula de Deventer. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 1-39p
44. Parra A. 2017. Perfiles de crecimiento en ponedoras comerciales (Parte II). Gerente de servicios técnicos Avícola Colombiana S.A. – Avicol. [Internet], [28 de Enero 2017]. Disponible en: <http://www.actualidadavipecuaria.com/articulos/perfiles-de-crecimiento-en-ponedoras-comerciales-parte-ii.html>
45. Perera F, Noda J, Alfonso P, Cuello S. 2003. Empleo de la inmunohistoquímica en el diagnostico de la Enfermedad infecciosa de la Bolsa. *Revista Cubana De Ciencia Avícola* 26: 137-140p.

46. Perera F, Noda J, Alfonso P, Cuello S, Espinosa V, Merino A. 2005. Vacunación asistida por serología para la enfermedad infecciosa de la bolsa. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET* 6 (Suppl.5): 1-10p
47. Perozo F, Villegas P, Fernández R, Cruz J, Pritchard N. 2009. Efficacy of single dose recombinant Herpesvirus of turkey Infectious Bursal Disease Virus (IBDV) vaccination against a variant IBDV strain. *Avian Diseases* 53 (Suppl.4): 624–628p.
48. Perozo F, Villegas P, Mavárez Y, Fernández R, Cruz J. 2010. Eficacia de un Herpesvirus de pavo recombinante expresando la proteína VP2 del virus de la Enfermedad de Gumboro ante un desafío experimental. *Revista Científica FCV-LUZ* 20 (Suppl.2): 132-137p.
49. Rauw F, Lambrecht B, Van Den Berg T. 2007. Pivotal role of ChIFN $\gamma$  in the pathogenesis and immunosuppression of Infectious Bursal Disease. *Avian Pathology* 36 (Suppl.5): 367-374p.
50. Reyna D. 2003. Evaluación de la respuesta inmune contra la Enfermedad Infecciosa de la Bolsa de Fabricio-Gumboro mediante la prueba de seroneutralización en cultivo celular. Tesis de Médico Veterinario. Guatemala: Universidad de San Carlos. 1-55p.
51. Robin O. 2008. Sistema inmune aviar: estrategia de protección de las aves e importancia de su buen funcionamiento. En: “X Congreso Internacional de Avicultura”. Maracaibo: Asociación Española de Ciencia Avícola.
52. Romero B. 2006. Comparación de tres programas de vacunación contra la Enfermedad de Gumboro, utilizando una cepa intermedia en pollita de levante procedente de una incubadora del área metropolitana. Tesis de Médico Veterinario. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. 5-44p.
53. Sacristán J, Sagardía J. 2005. La enfermedad de Gumboro (I): incidencia en España. *MG Mundo Ganadero* 16 (Suppl.174): 25-29.
54. Saif Y. 2003. Vacunas y vacunación contra la enfermedad de Gumboro. *Guía Anual 2003-Mundo Avícola & Porcino ALAVET* 43: 7 - 8.
55. Saif Y. 2006. Tipos antigénicos del virus de la Enfermedad de Gumboro. Libro blanco de la Enfermedad de Gumboro. Unidad de Avicultura de Laboratorios Hipra SA. 21-25p.
56. San Gabriel A. 1983. Respuesta inmune de las aves y sus alteraciones. *Arxius de l'Escola Superior d'Agricultura de Barcelona* 5: 81-89
57. Sarachai C, Chansiripornchai N y Sasipreeyajan J. 2010. Efficacy of Infectious Bursal Disease vaccine in broiler chickens receiving different vaccination programs. *The Thai Journal of Veterinary Medicine* 40 (suppl.1): 9-14

58. Saume E, Sogbe E, Castro M y Ascanio M. 2007. Estudio comparativo de tres cepas vacúnales del virus causante de la Enfermedad de la Bursa en pollos de engorde. *Zootecnia Trop.* 25 (suppl.2): 129-134.
59. Sesti L. 2011. Uso de vacunas de complejo antígeno – anticuerpo. [Internet], [11 de Noviembre 2011]. Disponible en: <http://www.actualidadavipecuaria.com/articulos/uso-de-vacunas-de-complejo-antigeno-anticuerpo.html>
60. Sharma J. 2011. Transferencia pasiva de inmunidad en pollos. Arizona State University - The Biodesing Institute [Internet], [27 de Junio 2011]. Disponible en: <http://www.actualidadavipecuaria.com/articulos/transferencia-pasiva-de-inmunidad-en-pollos.html>
61. Skeeles B. 2001. Score de Lesiones Bursales.. Geoga: Laboratorios Shering- Plough. 2 p.
62. Tizard I. 2009. Inmunología Veterinaria. 8ª ed. España: S.A. Elsevier. 4, 113p.
63. Valladares J. 2010. Experiencias practicas en el diagnóstico de la infección de la bolsa de Fabricio. En: 3a reunión AECACEM. Querétaro: Asociación de especialistas en ciencias avícolas del centro de México
64. Van der Berg T, Gonzea M, Meulemansa G. 1991. Acute Infectious Bursal Disease in poultry: isolation and characterisation of a highly virulent strain. *Avian Pathology* 20: 133-143.
65. Van der Berg T. 2000. Acute Infectious Bursal Disease in poultry: a review. Review Article. *Avian Pathology* 29: 175-194.
66. Vervelde, L. 1997. Comparison of the in situ changes in lymphoid cells during infection with infectious bursal disease virus in chickens of different ages. *Avian Pathology* 26: 803-821.
67. Vidal K. 2006. Evaluación de dos vacunas comerciales contra la infección bursal conteniendo el complejo antígeno anticuerpo en pollos de carne. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 1-50p
68. Villegas P. 2001. Control de la enfermedad infecciosa de la bolsa y de la anemia infecciosa aviar. En: XVII Congreso Latinoamericano de Avicultura. Guatemala: Asociación Latinoamericana de Avicultura.
69. Villegas P. 2006. Introducción a la Enfermedad de Gumboro. Libro blanco de la Enfermedad de Gumboro. Unidad de Avicultura de Laboratorios Hipra SA. 11-14p
70. Villegas P. 2009. Enfermedad de Gumboro: situación mundial y control futuro. En: XXI Congreso Latinoamericano de Avicultura. La Habana-Cuba: Asociación Latinoamericana de Avicultura.

71. Wei L, Hou L, Zhu S, Wang J, Zhou, J, Liu J. 2011. Infectious bursal disease virus activates the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt signaling pathway by interaction of VP5 protein with the p85 $\alpha$  subunit of PI3K. *Virology* 417 (Suppl.1): 211-220.
72. Zanetti F, Mitarotonda R, Taboga O y Calamante F. 2009. Poxvirus recombinantes que expresan proteínas del virus de la bursitis infecciosa. Su obtención y evaluación como inmunógenos de nueva generación en pollos. En: XXI Congreso Latinoamericano de avicultura. La Habana-Cuba: Asociación Latinoamericana de Avicultura.

## **VIII. APÉNDICE**

Apéndice 1. Distribución de aves en las unidades experimentales

Apéndice 2. Signos clínicos en las pollas

Apéndice 3. Observación macroscópica de las Bursas de Fabricio a los 35 días de edad (Antes del desafío)

Apéndice 4. Lesiones bursales macroscópicas

Apéndice 5. Otras lesiones compatibles con Gumboro presentadas en pollas del grupo control

Apéndice 6. Calificación de lesiones histopatológicas en Bursa de Fabricio

Apéndice 7. Lesiones bursales microscópicas

**Apéndice 1. Distribución de aves en las unidades experimentales**





**Apéndice 2. Signos clínicos en pollas del grupo control**



**Presencia de mortalidad a los 3 días post desafío**



**Presencia de depresión y diarrea a los 3 días post desafío**

**Apéndice 3. Observación macroscópica de las Bursas de Fabricio a los 35 días de edad (Antes del desafío)**

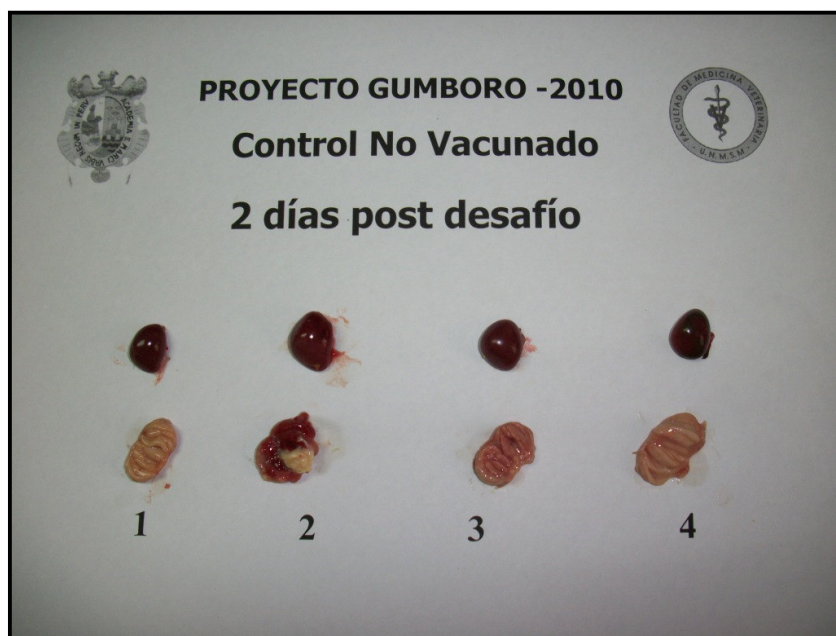


Las Bursas de Fabricio de los dos grupos son macroscópicamente de apariencia normal.

#### Apéndice 4. Lesiones bursales macroscópicas

##### Grupo control 2 días post desafío

Bursas aumentadas de tamaño, con hiperemia y edema, con material caseoso en el interior de la bursa, además de la presencia de hemorragias.





**Grupos A y B, 3 días post desafío (A: vacunado; B: no vacunado)**

Grupo A: 60% de aves con presencia de trasudado amarillento en la bursa.

Grupo B: 80% de aves con presencia de trasudado amarillento en la bursa.



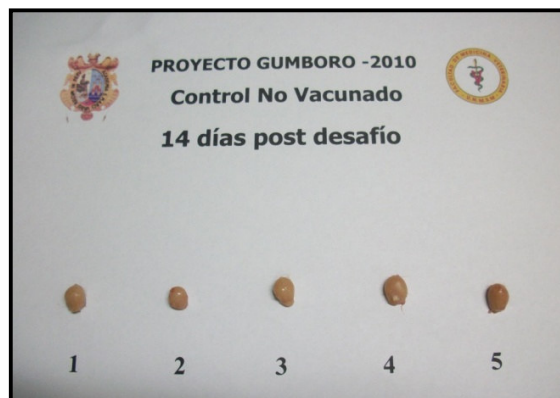
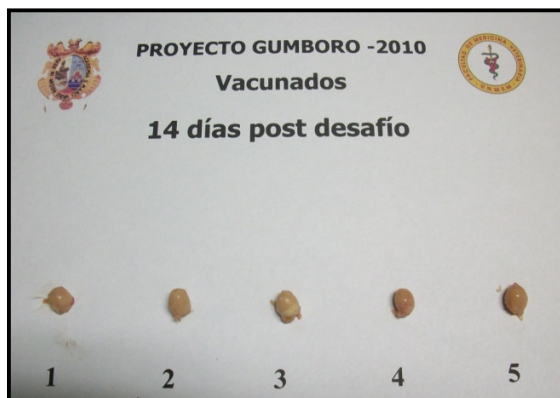
**Grupos A y B, 6 días post desafío (A: vacunado; B: no vacunado)**

En ambos grupos se observaron aves con edema de la bursa en un 40%, pero en el grupo B se observó atrofia bursal ya que el índice bursal promedio fue de 1.38.



**Grupos A y B, 14 días post desafío (A: vacunado; B: no vacunado)**

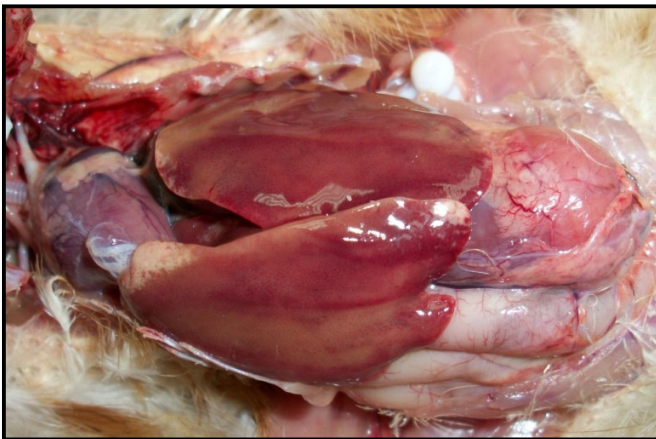
Las aves del grupo B presentaron valores dentro del rango de atrofia bursal siendo el valor del índice bursal de 0.99.



**Apéndice 5. Otras lesiones compatibles con Gumboro presentadas  
en pollas del grupo control**



**Hemorragias musculares**



**Necrosis hepáticas**



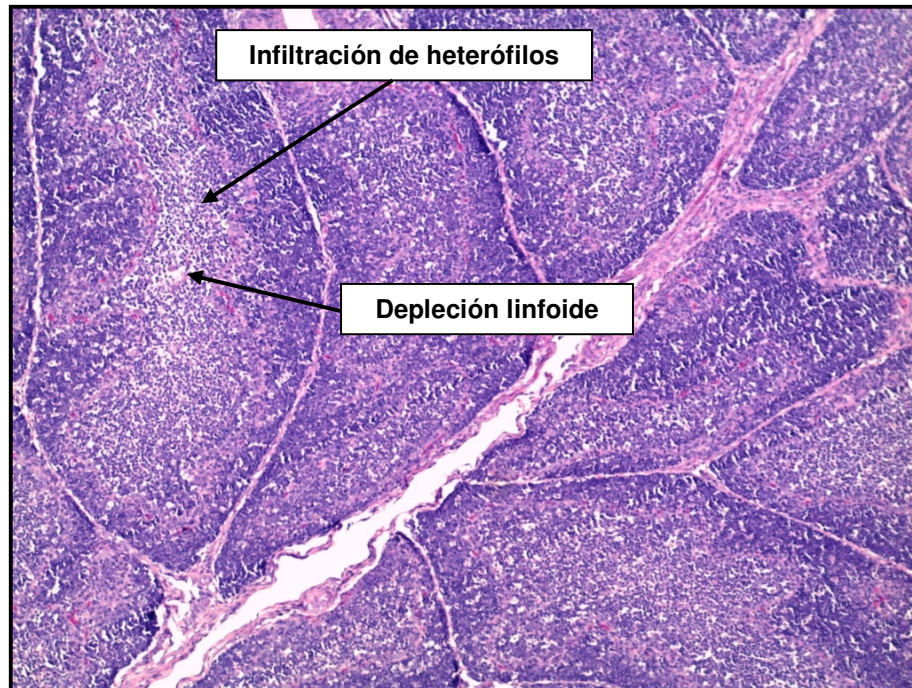
**Uratosis renal**

**Apéndice 6. Calificación de lesiones histopatológicas en Bursa de Fabricio**

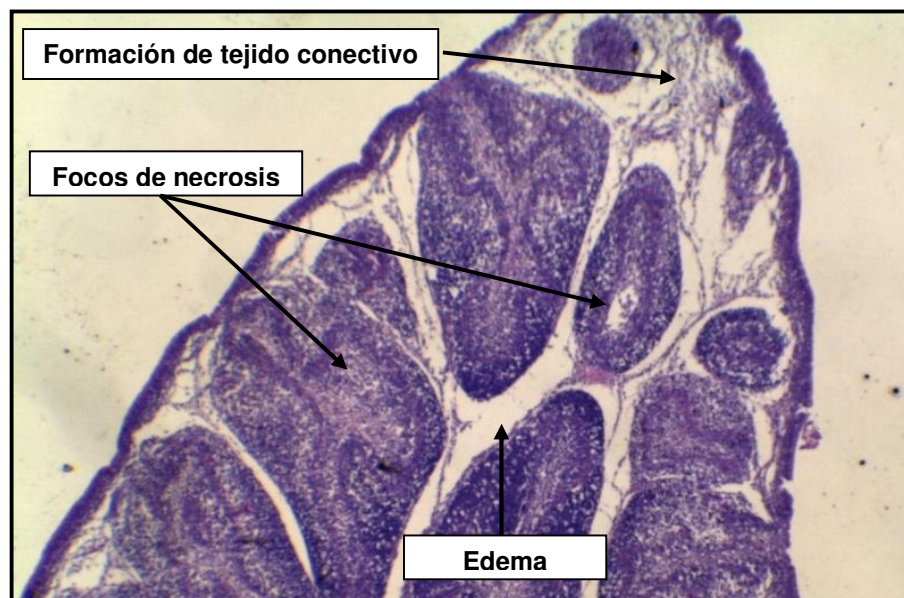
<b>Edad</b>	<b>Grupo</b>	<b>Calificación (5 bursas)</b>					<b>Promedio</b>
35 días (antes del desafío)	A	2	2	2	2	2	2
	B	2	2	1	2	2	1.8
3 días post desafío	A	3	2	1	2	1	1.8
	B	4	3	4	3	4	3.6
6 días post desafío	A	1	1	2	2	2	1.6
	B	3	4	3	4	3	3.4
14 días post desafío	A	1	1	2	3	3	2
	B	2	4	3	3	2	2.8



**Apéndice 7. Lesiones bursales microscópicas**

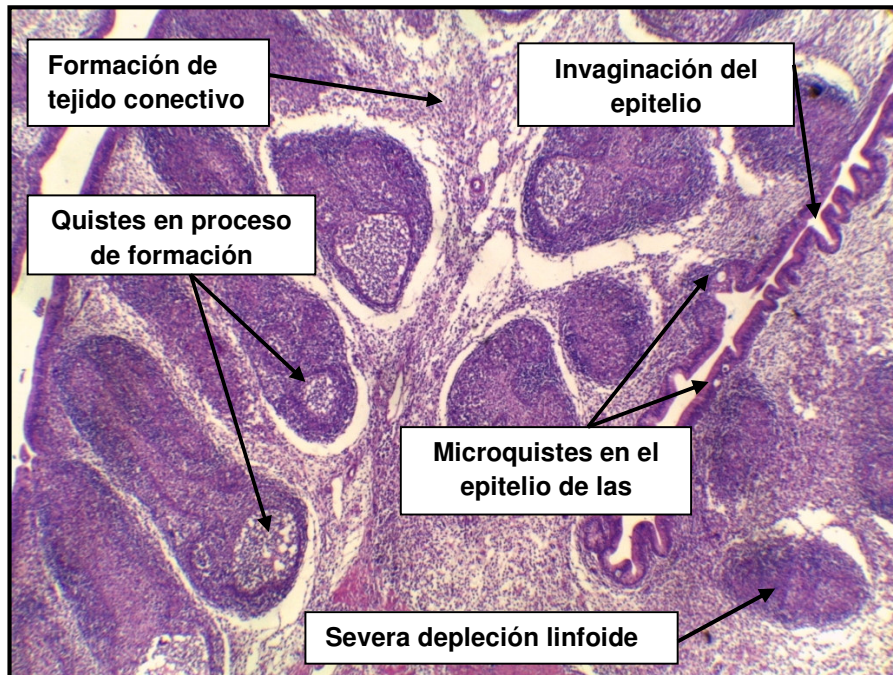


**Calificación bursal: GRADO 2**



**Calificación bursal: GRADO 3**





**Calificación bursal: GRADO 4**