

PRODUCCIÓN DE ANTICUERPOS Y CAMBIOS MORFOLÓGICOS DE LA BOLSA DE FABRICIO EN POLLOS VACUNADOS CON CEPAS INTERMEDIA E INTERMEDIA PLUS DE LA ENFERMEDAD DE GUMBORO

María J. Castro¹, Elsy Saume², Carmen T. Díaz¹ y Judith García²

RESUMEN

El virus causante de la Enfermedad de Gumboro afecta principalmente los linfocitos B, produciendo su destrucción en la bolsa de Fabricio y en menor grado en otros órganos linfoides. La investigación se orientó a determinar la producción de anticuerpos y cambios morfológicos en la bolsa de Fabricio, específicamente la relación bursa/peso corporal y el índice bursal, en pollos estirpe Columbian vacunados con cepas intermedia e intermedia plus de la Enfermedad de Gumboro. El estudio fue con 200 pollos, libres de anticuerpos específicos, los cuales fueron asignados aleatoriamente a 6 grupos experimentales. Las aves se vacunaron con las cepas intermedia e intermedia plus de la Enfermedad de Gumboro también fueron vacunadas con la cepa la Sota de Newcastle, para determinar inmunosupresión. Los niveles de anticuerpos contra Gumboro y Newcastle, se evaluaron mediante las pruebas de ELISA de Inhibición de la Hemoaglutinación, respectivamente. La patogenicidad, causada por cepas vacunales intermedia e intermedia plus, fue determinada observando los cambios presentes en la bolsa de Fabricio, mediante la evaluación macroscópica, la relación bursa/peso corporal e índice bursal. Los resultados serológicos demostraron que los títulos de anticuerpos producidos contra Gumboro y Newcastle, en todos los grupos vacunados, no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$), a los 42 días de edad. Con respecto al tamaño de la bolsa de Fabricio, el grupo control y el grupo vacunado con Newcastle, presentaron mayor tamaño del órgano con respecto a los grupos vacunados con Gumboro. Se concluye que las vacunas utilizadas en este ensayo resultaron no ser inmunosupresoras, a pesar de existir diferencias estadísticamente significativas en todos los grupos vacunados con respecto al grupo control en el tamaño de la bolsa de Fabricio e índices bursales.

Palabras Clave: Enfermedad de Gumboro; bolsa de Fabricio; cepas intermedia e intermedia plus.

¹ Profesores. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Fisiología Animal y Cátedra de Anatomía Patológica, respectivamente E-mail: castromj2002 @ yahoo.com

² Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. INIA-CENIAP. esaume@inia.gob.ve.

³ Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias y Facultad de Agronomía, respectivamente. E.mail: Garciaj@agr.ucv.ve.

Recibido: 08/03/2006

Aprobado: 15/09/2006

**ANTIBODY PRODUCING AND BURSAL
MORPHOLOGICAL CHANGES IN CHICKENS STIRPS
COLUMBIAN EXPOSED TO INTERMEDIATE AND
PLUS INTERMEDIATE OF INFECTIOUS BURSAL
DISEASES VACCINES.**

María J. Castro¹, Elsy Saume², Carmen T. Díaz¹ y Judith García²

SUMMARY

Infectious bursal disease virus leads to the destruction of B cells in the bursa of Fabricius and, to a lesser degree in other lymphoid organs, attacking the bird's immune system. The objective of this study was to determine the recovery of antibody producing ability, the bursa/body weight index and bursa index in chickens stirpe Columbian exposed to intermediate and plus intermediate vaccines. It was carried out a study with 200 chickens without maternal antibody, which were allotted in to six groups. Chickens were inoculated with intermediate and plus intermediate vaccine. To indicate the level of humoral immunosuppression caused by these vaccines, chickens were exposed to the Newcastle disease vaccine La Sota strain. An ELISA test was used to detect antibodies to infectious bursal disease and a Hemagglutination-Inhibition test for detecting antibodies to the Newcastle disease. The pathogenicity caused by intermediate and plus intermediate vaccines were determinate with the bursa/body weight index and bursa index. The serology results indicated that no significant differences ($P > 0.05$) were found in the vaccinated groups at 42 days of age. The bursal size in unvaccinated group and vaccinated Newcastle group was bigger than those of birds in the vaccinated infectious bursal disease groups. In conclusion, neither of the vaccines used in this study was immunosuppressive as was measured by Newcastle disease vaccination responses.

Key Words: infectious bursal disease, bursa, intermediate and plus intermediate strains.

¹ Profesores. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Fisiología Animal y Cátedra de Anatomía Patológica, respectivamente
E-mail: castromj2002 @ yahoo.com

² Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. INIA-CENIAP.
E-mail: Esaume@inia.gob.ve.

³ Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias y Facultad de Agronomía, respectivamente. E.mail: Garciaj@agr.ucv.ve.

Recibido: 08/03/2006

Aprobado: 15/09/2006

INTRODUCCIÓN

La Enfermedad de Gumboro es causada por un Birnavirus perteneciente a la familia Birnaviridae, el cual se caracteriza por ser un virus sin envoltura y presentar un genoma formado por dos fragmentos de ARN de cadena doble. Existen dos serotipos 1 y 2, los cuales son diferenciados por pruebas de virus neutralización y electroforesis de RNA viral y de proteínas. Ambos presentan una gran diversidad antigénica (Ismail *et al.*, 1988; Jordan y Pattison, 1996).

Las células blanco para la replicación del virus de la Enfermedad de Gumboro son los linfocitos B en división activa, esta infección determina la destrucción de los linfocitos B en la bolsa de Fabricio, el principal órgano productor de los linfocitos B, y en menor grado en otros órganos tales como las tonsilas cecales y el bazo. El efecto destructivo del virus en los linfocitos B, produce una reducción dramática de la habilidad de las aves infectadas con el virus, para producir anticuerpos en contra de los antígenos (Rautenschlein y Sharma, 2001).

Además de reducir la inmunidad humoral, este virus también compromete la respuesta inmune mediada por células en los pollos. Los linfocitos T, son una de las más importantes poblaciones celulares requeridas para la respuesta inmune mediada por células (Rautenschlein y Sharma, 2001).

Estos linfocitos T pueden responder directamente frente al antígeno, o estimular a los linfocitos B que sintetizan a las inmunoglobulinas o anticuerpos (Madigan *et al.*, 2000).

Se ha demostrado que hay profundas diferencias entre las cepas virulentas y vacunales, en cuanto a su patogénesis y habilidad para inducir inmunosupresión, siendo una de estas diferencias la localización e intensidad de replicación viral. Ya que las cepas virulentas tienen mayor capacidad de replicación en la bolsa de Fabricio, e inducen lesiones bursales más severas y son más inmunosupresoras que las cepas vacunales. Aunque las vacunas intermedias también destruyen la bolsa de Fabricio, las aves infectadas con estas cepas se recuperan más rápidamente de sus lesiones bursales en comparación con las aves infectadas con una cepa virulenta de campo. Las aves infectadas con cepas virulentas, tienen un mayor y más rápido desarrollo de anticuerpos antiviral, que las aves vacunadas con cepas menos patógenas (Rautenschlein y Sharma, 2001).

De allí la necesidad de determinar el efecto inmunosupresor que causan las cepas vacunales de la Enfermedad de Gumboro, dado el papel que se le ha asignado a esta enfermedad en el incremento de la incidencia y severidad de otras enfermedades, además de su efecto en el sistema inmune, lo cual constituye la finalidad de esta investigación, planteando como objetivos:

- Determinar la producción de anticuerpos, en pollos estirpe Columbian vacunados con cepas intermedia e intermedia plus de la Enfermedad de Gumboro y evaluar los cambios morfológicos a nivel de la bolsa de Fabricio, mediante la relación bursa/peso corporal, índice bursal.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio experimental se realizó con 200 pollos estirpe Columbian, de sexos masculinos y libres de anticuerpos específicos contra Gumboro y Newcastle.

Los pollos de un día de edad fueron ubicados en una criadora de 80 x 50 centímetros. Previo a la distribución aleatoria, se seleccionaron al azar al 3^{er} día de edad veinte pollos, a los cuales, se les tomaron muestras de sangre del corazón, con el fin de evaluar sus anticuerpos maternos contra Gumboro y Newcastle, posteriormente fueron sacrificados por estrangulamiento para extraer y evaluar órganos linfoides, específicamente, bazo y bolsa de Fabricio. El resto fue distribuido aleatoriamente en seis grupos experimentales de treinta pollos, cada uno con tres réplicas de 10 pollos. Los pollos se ubicaron en 6 galpones, en jaulas de 80 centímetros x 1,20 metros, dotadas de comederos y bebederos, el alimento comercial y el agua fueron suministrados *ad-libitum*, hasta los 42 días de edad. La distribución aleatoria de los grupos fue la siguiente:

Grupo 1: Grupo control formado por 30 pollos libres de inmunización.

Grupo 2: Formado por 30 pollos vacunados a los 6 días de edad con la cepa La Sota de Newcastle.

Grupo 3: Formado por 30 pollos vacunados a los 6 días de edad con la cepa intermedia de Gumboro.

Grupo 4: Formado por 30 pollos vacunados a los 14 días de edad con la cepa intermedia plus de Gumboro.

Grupo 5: Formado por 30 pollos vacunados a los 6 días de edad con la cepa intermedia de Gumboro y con la cepa La Sota de Newcastle.

Grupo 6: Formado por 30 pollos vacunados a los 14 días de edad con la cepa intermedia plus de Gumboro y con la cepa La Sota de Newcastle.

Para la realización de este estudio se utilizaron 2 vacunas comerciales contra la Enfermedad de Gumboro (Intermedia e Intermedia Plus), y una vacuna comercial contra la Enfermedad de Newcastle Cepa La Sota. A virus vivo (vv), liofilizadas, en una presentación de 1 000 dosis, siendo resuspendidas en 30 ml de diluyente. La vía de vacunación fue ocular.

Después de vacunar los respectivos grupos experimentales (Cuadro 1) con las diferentes cepas de Gumboro y Newcastle, las aves fueron observadas diariamente, para evaluar morbilidad y mortalidad.

CUADRO 1. Títulos de anticuerpos contra Gumboro, evaluados por la prueba de ELISA y expresados como el logaritmo del título.

		Grupos				
Edad (Días)	Pollitos Control Pre-Vac	1	3 (Gumboro Intermedia)	4 (Gumboro Intermedia Plus)	5 (Gumboro Intermedia y Newcastle)	6 (Gumboro Intermedia Plus y Newcastle)
3	Sin Título					
16	Sin Título		3 262,2938		3 420,3711	
24	Sin Título			5 431,117		5 816,4971
42	Sin Título	7 836,9625	8 587,3576	7 361,4565	7 984,5531	

NOTA: Los grupos 3 y 5 solo se muestrearon a los 16 y 42 días de edad. Los grupos 4 y 6 sólo se muestrearon a los 24 y 42 días de edad.

Diez días después de aplicar las diferentes vacunas, es decir, a los dieciséis y veinticuatro días respectivamente, las aves fueron sangradas y sacrificadas a razón de cinco aves por réplica, es decir, 15 aves por grupo, las quince aves restantes se sangraron a los cuarenta y dos días de edad. Con respecto a los grupos uno y dos, se sangraron tres aves por réplica a los dieciséis y veinticuatro días de edad, y el resto de las aves se sacrificaron a los cuarenta y dos días de edad; con la finalidad de evaluar los niveles de anticuerpos contra Gumboro y Newcastle. Después del sacrificio, se procedió a extraer la bolsa de Fabricio, para evaluar lesiones macroscópicas y peso, a fin de determinar la relación bursa/peso corporal y el índice bursal.

Fase de laboratorio

Estudio Serológico

Para determinar los títulos de anticuerpos séricos contra Gumboro y Newcastle, se tomaron de cada ave de 3 a 4 ml de muestras de sangre por punción intracardiaca, utilizando jeringas estériles, las cuales, se dejaron reposar hasta la formación y retracción del coágulo, posterior a esto se procedió a extraer el suero, el cual se centrifugó por diez minutos a 1 500 rpm, con el fin de eliminar la presencia de detritus celulares, y el complemento se inactivó a 56 °C por 30 minutos, para finalmente congelarlos a -10 °C (National Academy of Sciences - National Research Council, 1959).

Determinación de título de anticuerpos séricos contra el virus de Gumboro, mediante la prueba de ELISA.

La prueba de ELISA se realizó siguiendo los pasos descritos en el kit Kirkegaard and Perry Laboratories (KPL) para la detección de anticuerpos de Gumboro.

Determinación de Títulos de anticuerpos séricos contra el virus de Newcastle, mediante la prueba Inhibición de la Hemoaglutinación (HI).

Para realizar la prueba de HI, se emplearon los componentes básicos de la misma, como son el antígeno hemoaglutinante, el suero diluido seriadamente en concentraciones decrecientes, y la suspensión de eritrocitos. La prueba se realizó en microplacas, usando el procedimiento β . Se utilizaron sueros controles positivos y negativos, y un control de glóbulos rojos (Thayer y Beard, 1998).

La prueba de HI se realizó siguiendo los pasos descritos por Villegas (1998) y por Thayer y Beard (1998).

Evaluación macroscópica de la bolsa de Fabricio

Una vez extraídas las bolsas de Fabricio, estas fueron evaluadas macroscópicamente por medio de una evaluación subjetiva de lesiones tales como, edema, congestión y hemorragias en la superficie mucosa de la bolsa de Fabricio (Rosales *et al.*, 1989).

Relación bursa/peso corporal e índice bursal

Los pollos sacrificados fueron inmediatamente pesados en una balanza con capacidad de 2 kg, donde se determinó el peso de los pollos en gramos, seguido por el peso de las bolsas de Fabricio en gramos.

La relación bursa/peso corporal se calculó con la fórmula: peso de la bolsa de Fabricio (g) \times 1000 \div total del peso corporal (g) (Ismail *et al.*, 1990; Tanimura *et al.*, 1995).

Los índices bursales fueron determinados de la siguiente manera: La relación bursa/peso corporal de los pollos inoculados, fue dividida entre el promedio de la relación bursa/peso corporal de los pollos controles (Lucio y Hitchner, 1979).

Pollos con un índice bursal inferior a 0,70, se consideraron con atrofia de la bolsa de Fabricio (Lucio y Hitchner, 1979).

Análisis estadísticos

Se realizó un diseño completamente aleatorizado. Todas las variables fueron analizadas por día y por tratamiento.

La variable de los títulos de anticuerpos de Gumboro, por ser una variable cuantitativa, y no aprobar los Supuestos del Análisis de la Varianza, se analizó por la vía no paramétrica, con la Prueba de Kruskal-Wallis y su respectiva prueba de medias. Las variables de los títulos de anticuerpos de Newcastle y el tamaño de la bolsa de Fabricio, por ser una variable cuantitativa, se realizó un análisis de varianza vía paramétrica y su respectiva prueba de medias (prueba de Tukey).

Al realizar el análisis estadístico por tratamiento, en los grupos experimentales 3, 4, 5, y 6, se realizó la prueba no paramétrica de Wilcoxon-Mann-Whitney, por tratarse cada uno de dos muestras pequeñas, independientes, con distribuciones continuas (Canavos, 1988).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Producción de anticuerpos contra la Enfermedad de Gumboro y contra la Enfermedad de Newcastle, mediante las pruebas de ELISA e Inhibición de la Hemoaglutinación (HI)

La producción de anticuerpos contra la Enfermedad de Gumboro, demostrados mediante la prueba de ELISA, y la producción de anticuerpos, contra la Enfermedad de Newcastle, demostrados mediante la prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación, se pueden observar en los Cuadros 1 y 2, respectivamente.

En cuanto a la producción de anticuerpos contra Gumboro, en los 20 pollitos tomados al azar al 3^{er} día de edad, y en el grupo 1, no se detectaron títulos de anticuerpos. En el resto de los grupos muestreados (3,4,5 y 6), se pudo observar un aumento de los títulos de anticuerpos contra Gumboro, en la última toma de muestra, a los 42 días de edad. No se tomaron muestras de sueros del grupo 2, ya que este grupo fue vacunado solamente contra Newcastle

El análisis estadístico realizado, demuestra que los títulos de anticuerpos contra Gumboro, detectados a los 16, 24, y 42 días de edad, resultaron homogéneos, no existiendo diferencias estadísticamente significativas ($P>0,05$).

La producción de anticuerpos contra Newcastle, demostrados mediante la prueba Inhibición de la Hemoaglutinación, en los 20 pollitos de 3 días de edad y en el grupo control, no se detectaron títulos de anticuerpos. Para el grupo 2 se observó un incremento de los títulos de anticuerpos a los 24 días de edad, observándose una declinación a los 42 días de edad. En el grupo 5 hubo un incremento de los títulos a los 42 días de edad, a diferencia del grupo 6, en el cual a los 42 días de edad se observó una declinación en los títulos de anticuerpos, no obstante, en los grupos 5 y 6, no se presentaron diferencias estadísticamente significativas, entre la

primera toma de muestra a los 10 días post vacunación, y la última toma de muestra a los 42 días de edad. No se tomaron muestras de los grupos 3 y 4, ya que los mismos no fueron vacunados contra Newcastle.

El análisis estadístico realizado, revela que los títulos de anticuerpos contra Newcastle, detectados a los 16 días de edad, en los grupos 2 y 5 resultaron homogéneos, no existiendo diferencias estadísticamente significativas ($P>0,05$) entre ellos. Los títulos de anticuerpos detectados a los 24 días de edad, en los grupos 2 y 6 presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P<0,05$) siendo mayores para el grupo 2. A los 42 días de edad, entre los grupos 2, 5 y 6, los títulos de anticuerpos resultaron homogéneos, no existiendo diferencias estadísticamente significativas ($P>0,05$).

CUADRO 2. Títulos de anticuerpos contra Newcastle, evaluados por la prueba de HI y expresados como el promedio geométrico del título.

Edad (Días)	Grupos				
	Pollitos Pre-vacunación	1 Control	2 (Newcastle)	5 (Gumboro Intermedia y Newcastle)	6 (Gumboro Intermedia Plus y Newcastle)
3	SinTítulo				
16		SinTítulo	86	32	
24		SinTítulo	343		113
42		SinTítulo	65	86	75

NOTA: El grupo 5 solo se muestreo a los 16 y 42 días de edad. El grupo 6 solo se muestreo a los 24 y 42 días de edad.

Lesiones macroscópicas a nivel de la bolsa de Fabricio

Inmediatamente después de extraer las bolsas de Fabricio de los 20 pollitos tomados al azar previo a la vacunación, el grupo control y todos los grupos vacunados, éstas se evaluaron macroscópicamente, presentando ausencia de alteraciones visibles (lesiones macroscópicas) como edema, congestión y hemorragias,

Tamaño de la bolsa de Fabricio, determinado por la relación bursa/peso corporal

Posterior a la evaluación macroscópica, las bolsas de Fabricio fueron inmediatamente pesadas, para determinar la relación bursa/peso corporal. Esta relación se determinó con la fórmula indicada por Ismael *et al.* (1990) y Tanimura *et al.* (1995), como se indica a continuación: peso de la bolsa de Fabricio (g) \times 1000 \div total del peso corporal (g).

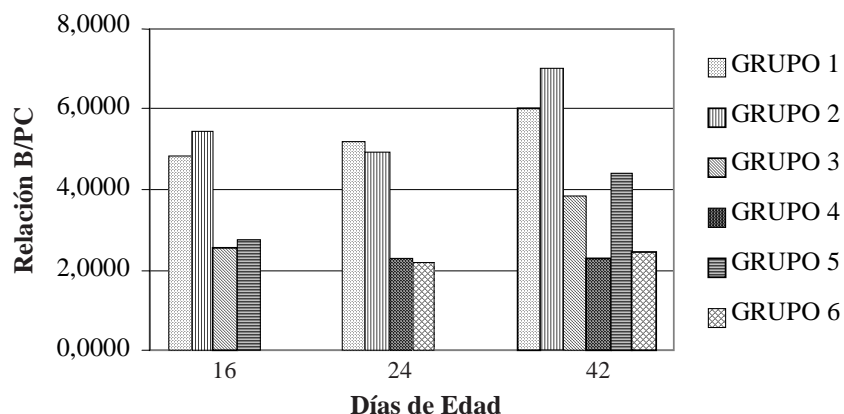
Como se muestra en la Figura 1, a los 16 y 24 días de edad, los grupos 1 y 2, presentaron bolsas de Fabricio más grandes que los grupos 3 y 5, y 4 y 6 respectivamente. A los 42 días de edad, los grupos 1 y 2 continuaron presentando bolsas de Fabricio de mayor tamaño, seguido por los grupos 5, 3 y 6, el menor tamaño de la bolsa de Fabricio lo presentó el grupo 4.

En el análisis estadístico realizado, a los 16 días de edad, los grupos 1 y 2 difieren estadísticamente ($P < 0,05$) de los grupos 3 y 5. No existieron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$), entre los grupos 1 y 2 ni entre los grupos 3 y 5.

A los 24 días de edad, los grupos 1 y 2 difieren estadísticamente ($P < 0,05$) de los grupos 4 y 6. No existieron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$), entre los grupos 1 y 2 ni entre los grupos 4 y 6. A los 42 días de edad, los grupos 1 y 2 difieren estadísticamente ($P < 0,05$) de los grupos 3, 4, 5 y 6.

Atrofia de la bolsa de Fabricio, determinado por el índice bursal

Una vez obtenidos los datos del promedio de la relación bursa/peso corporal de los pollos controles, y los datos de la relación bursa/peso corporal de los pollos inoculados, se procedió a obtener el índice bursal de los pollos inoculados. El índice bursal se calculó con la fórmula indicada por Lucio y Hitchner (1979).



Nota: Los grupos 3 y 5 solo se muestrearon a los 16 y 42 días de edad. Los grupos 4 y 6 solo se muestrearon a los 24 y 42 días de edad.

FIGURA 1. Tamaño de la bolsa de Fabricio por grupos y días, determinado con la relación bursa/peso corporal.

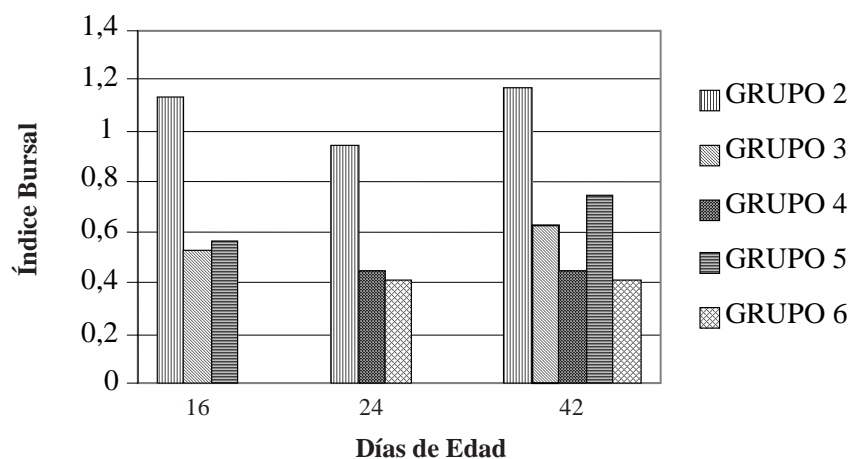
Índice bursal= relación bursa/peso corporal de los pollos vacunados ÷ promedio de la relación bursa /peso corporal de los pollos controles.

Se tomo como referencia un índice bursal inferior a 0,70, para considerarlo como atrofia de la bolsa de Fabricio (Lucio y Hitchner, 1979).

Como se observa en la Figura 2, en el grupo 2, a los 16, 24 y 42 días de edad, se presenta un índice bursal superior a 0,70. Los grupos 3 y 5, a los 16 días de edad, presentan atrofia de la bolsa de Fabricio, ya que el índice bursal fue inferior a 0,70. Este mismo resultado se presenta en los grupos 4 y 6, a los 24 días de edad. A los 42 días de edad los grupos 2 y 5, presentan un índice bursal superior a 0,70. El resto de los grupos presentan atrofia de la bolsa de Fabricio.

Los análisis estadísticos demuestran que a los 16 y 24 días de edad, el grupo 2, presenta un índice bursal estadísticamente superior ($P < 0,05$) al resto de los grupos.

A los 42 días de edad, el grupo 2 difiere estadísticamente ($P < 0,05$) de los grupos 3, 4, 5 y 6.



NOTA: Los grupos 3 y 5 solo se muestrearon a los 16 y 42 días de edad. Los grupos 4 y 6 solo se muestrearon a los 24 y 42 días de edad.

FIGURA 2. Atrofia de la bolsa de Fabricio, por grupos y días determinada con el índice bursal.

En la presente investigación al evaluar los títulos de anticuerpos contra Gumboro a través de la prueba de ELISA, en los grupos vacunados 3, 4, 5 y 6 hubo un aumento altamente significativo ($P < 0,05$) en la toma de muestra a los 42 días de edad, con respecto a la primera toma de muestra (10 días post vacunación), no existiendo diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$) entre todos los grupos vacunados (Cuadro 2). Estos resultados son análogos a los encontrados por Kim *et al.* (1999), donde los niveles de anticuerpos contra Gumboro, en pollos vacunados con una cepa intermedia, aumentan a los 42 días de edad.

Si bien, entre los grupos 3, 4, 5 y 6 no existieron diferencias estadísticamente significativas a los 42 días de edad, los títulos de anticuerpos en los grupos 4 y 6, ambos vacunados con la cepa intermedia plus de Gumboro, fueron mayores con respecto a los grupos 3 y 5, vacunados con la cepa intermedia. Este resultado pudiera deberse a lo señalado por Naqi *et al.* (1980), donde reportan que las cepas más invasivas producen títulos de anticuerpos contra Gumboro más altos y más persistente que las cepas menos invasivas.

Con respecto a los títulos de anticuerpos contra Newcastle evaluados por la prueba Inhibición de la Hemoaglutinación, en los grupos 5 y 6 vacunados con la cepa intermedia de Gumboro y Newcastle y con la cepa intermedia plus de Gumboro y Newcastle, respectivamente, no hubo diferencias estadísticamente significativas ($P>0,05$) entre la primera y última toma de muestra. Presentando todos los grupos vacunados contra Newcastle (2, 5 y 6) una respuesta inmune humoral homogénea a los 42 días de edad.

Estos resultados son similares a los señalados por Giambrone y Clay (1986), los cuales evaluaron dos vacunas intermedias, y ninguna de ellas resultó ser inmunosupresiva, ya que las aves fueron capaces de producir altos títulos de anticuerpos contra Newcastle.

No obstante Mazariegos *et al.* (1990), evaluaron seis vacunas intermedias, entre los resultados encontrados, dos de las vacunas fueron más inmunosupresoras que el resto, evidenciándose por la pobre respuesta de anticuerpos contra Newcastle, más aún al compararse con el grupo que sólo fue vacunado con Newcastle, ya que el mismo produjo mayores títulos de anticuerpos.

En este estudio, no se observaron efectos inmunosupresores de las vacunas intermedia e intermedia plus de la Enfermedad de Gumboro, lo cual se evidenció por los altos títulos de anticuerpos contra Newcastle, obtenidos en los grupos 5 y 6.

En cuanto al tamaño de la bolsa de Fabricio, determinado a través de la relación bursa/peso corporal e índice bursal, en este trabajo, a los 10 días post vacunación, es decir, a los 16 y 24 días de edad, las aves pertenecientes a los grupos 3, 4, 5 y 6, presentaron atrofia de la bolsa de Fabricio, siendo el índice bursal inferior a 0,70 (Figura 2). En la última toma de muestra a los 42 días de edad, las aves pertenecientes a los grupos 2 y 5 manifestaron índices bursales superiores a 0,70, el resto de las aves pertenecientes a los grupos 3, 4 y 6, presentaron atrofia de la bolsa de Fabricio. Un resultado similar se observa en la investigación realizada por Giambrone y Clay (1986), donde grupos de aves vacunadas con las cepas intermedias de Gumboro, a los 24 días post vacunación presentaron atrofia de la bolsa de Fabricio, a diferencia del grupo control.

Estos resultados son análogos a los presentados por Rosales *et al.* (1989), observando en pollos vacunados con una cepa intermedia y posterior-

mente desafiados con cepas clásicas y variantes de Gumboro, menor índice bursal, con bolsas de Fabricio 25% más pequeñas que el grupo control, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre el grupo vacunado y no desafiado, y el grupo vacunado y desafiado.

El grupo 1 control, y el grupo 2 vacunado con Newcastle cepa La Sota, presentaron bolsas de Fabricio de mayor tamaño, mostrando diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) con el resto de los grupos 3, 4, 5 y 6. Similar resultado obtuvieron Kim *et al.* (1999), donde la relación bursa/peso corporal de los pollos vacunados con una cepa intermedia fue significativamente menor que el grupo control.

Mazariegos *et al.* (1990), indican que la relación bursa/peso corporal no siempre resulta un buen indicador, ya que en su investigación, algunos pollos que no mostraron mayores cambios en la relación bursa/peso corporal, no respondieron adecuadamente a la vacunación con Newcastle, teniendo además severas lesiones microscópicas en la bolsa de Fabricio.

En esta investigación se considera que a pesar de la atrofia observada en la bolsa de Fabricio, los grupos 3, 4, 5 y 6 presentaron altos títulos de anticuerpos contra Newcastle y Gumboro.

CONCLUSIONES

- Las cepas intermedia e intermedia plus de la Enfermedad de Gumboro utilizadas en este ensayo, demostraron no ser inmunosupresoras, evidenciándose por los altos títulos de anticuerpos producidos contra Gumboro y Newcastle.
- Todos los grupos vacunados con las cepas intermedia e intermedia plus, manifestaron atrofia de la bolsa de Fabricio, excepto el grupo 5 vacunado con la cepa intermedia, el cual presentó a los 42 días de edad un índice bursal superior a 0,70.

BIBLIOGRAFÍA

CANAVOS, G. C. 1988. Probabilidad y Estadística. Aplicaciones y Métodos. Mc Graw-Hill. España. pp. 572-592.

GIAMBRONE, J. J.; R. P. CLAY. 1986. Evaluation of the immunogenicity, stability, pathogenicity and immunodepressive potential of four commercial live infectious bursal disease vaccines. *Poultry Sci.* 65, 1 287-1 290.

ISMAIL, N. M.; Y. M. SAIF; P. D. MOORHEAD. 1988. Lack of pathogenicity of five serotype 2 infectious bursal disease virus in chickens. *Avian Dis.* 32, 757-759.

ISMAIL, N. M.; Y. M. SAIF; W. L. WIGLE; G. B. HAVENSTEIN; C. JACKSON. 1990. Infectious bursal disease virus variant from commercial leghorn pullets. *Avian Dis.* 34, 141-145.

JORDAN, F.; M. PATTISON. 1996. Infectious bursal disease. **In:** *Poultry Diseases* (4ta. ed.). Saunders Company, London. pp. 199-203.

KIM, I.; M. GAGIC; J. M. SHARMA. 1999. Recovery of antibody producing ability and lymphocyte repopulation of bursal follicles in chickens exposed to infectious bursal disease virus. *Avian Dis.* 43, 401-413.

LUCIO, B.; S. B. HITCHNER. 1979. Infectious bursal disease emulsified vaccine: effect upon neutralizing-antibody levels in the dam and subsequent protection on the progeny. *Avian Dis.* 23, 466-478.

MADIGAN, M. T.; J. M. MARTINKO; J. PARKER. 2000. Conceptos de Inmunología. **In:** *Biología de los microorganismos* (8va. ed.). Prentice Hall Iberia, Madrid. pp. 813-864.

MAZARIEGOS, L. A.; P. D. LUKERT; J. BROWN. 1990. Pathogenicity and immunosuppressive properties of infectious bursal disease Intermediate strains. *Avian Dis.* 34, 203-208.

NAQI, S. A.; D. L. MILLAR; L. C. GRUMBLES. 1980. An evaluation of three commercially available infectious bursal disease vaccines. *Avian Dis.* 24, 233-240.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1959. Serological test systems. **In:** *Methods for the examination of poultry biologics*. Washington, D. C. pp. 28-32.

RAUTENSCHLEIN, S.; J. M. SHARMA. 2001. Inmunosupresión inducida por el VEIB, supresión de la respuesta humoral. *World Poultry*. Octubre 2001. Especial. 16-17.

ROSALES, A. G.; P. VILLEGAS; P. D. LUKERT; O. J. FLETCHER; M. A. MOHAMED; J. J. BROWN. 1989. Pathogenicity of recent isolates of infectious bursal disease virus in specific pathogen free chickens, protection conferred by an intermediate vaccine strain. *Avian Dis.* 33, 729-734.

TANIMURA, N.; K. TSUKAMOTO; K. NAKAMURA; M. NARITA; M. MAEDA. 1995. Association between pathogenicity of infectious bursal disease virus and viral antigen distribution detected by immunohistochemistry. *Avian Dis.* 39, 9-20.

THAYER, S. G.; C. W. BEARD. 1998. Serologic procedures. **In:** A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens (4ta. ed.). AA. AP. pp. 255-266.

VILLEGAS, P. 1998. Collection and preparation of chickens red blood cells (RBC'S). **In:** Laboratory manual, Avian virus disease. College of Veterinary Medicine. The University of Georgia-Estados Unidos. pp. 27-30.