

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA



**"COMPARACIÓN DE TRES PROGRAMAS DE
VACUNACIÓN CONTRA LA ENFERMEDAD DE
GUMBORO, UTILIZANDO UNA CEPA INTERMEDIA
EN POLLITA DE LEVANTE PROCEDENTE DE UNA
INCUBADORA DEL AREA METROPOLITANA."**

BRENDA ELIZABETH ROMERO GUARDADO

GUATEMALA, AGOSTO 2006

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

**“COMPARACIÓN DE TRES PROGRAMAS DE VACUNACIÓN
CONTRA LA ENFERMEDAD DE GUMBORO, UTILIZANDO
UNA CEPA INTERMEDIA EN POLLITA DE LEVANTE
PROCEDENTE DE UNA INCUBADORA DEL AREA
METROPOLITANA”**

TESIS

PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

POR

BRENDA ELIZABETH ROMERO GUARDADO

COMO REQUISITO, PREVIO A OPTAR AL TÍTULO DE

MÉDICA VETERINARIA

GUATEMALA, AGOSTO 2006

JUNTA DIRECTIVA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS GUATEMALA

DECANO: Lic. Zoot. Marco Vinicio de la Rosa Montepeque
SECRETARIO: Lic. Zoot. Gabriel Gerardo Mendizábal Fotun
VOCAL I: Dr. M.V. Yery Edgardo Veliz Porras
VOCAL II: Dr. M.V. Fredy Rolando González Guerrero
VOCAL III: Dr. M.V. Edgar Bailey Vargas
VOCAL IV: Br. Yadyra Rocío Pérez Flores
VOCAL V: Br. José Abraham Ramírez Chang

ASESORES

Dra. M.V. Lucero Serrano Arriaza de Gaitan

Dr. M.V. Jaime Rolando Méndez Sosa

Dr. M.V. Juan Gabriel Espino Echeverría

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los estatutos de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de tesis titulado:

**“COMPARACIÓN DE TRES PROGRAMAS DE VACUNACIÓN
CONTRA LA ENFERMEDAD DE GUMBORO, UTILIZANDO
UNA CEPA INTERMEDIA EN POLLITA DE LEVANTE
PROCEDENTE DE UNA INCUBADORA DEL AREA
METROPOLITANA”**

Que fuera aprobado por la Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título profesional de

MÉDICA VETERINARIA

TESIS Y ACTO QUE DEDICO

A mi Padre, Dios todo poderoso fuente de mi existir por concederme lograr esta meta.

A mi Papi, Sergio Romero † por haberme dado todo el amor paterno, dedico este triunfo a tu memoria.

A mi Mami Olimpia Guardado, por ser una madre amorosa, valiente y quien siempre me ha llenado de perseverancia en la vida.

A mis hermanas, Carolina y Norma por su fraternidad y ser mis ejemplos a seguir.

A mi hermano, Saúl por todo su apoyo.

A mis sobrinos, Carlos Fernando, Viviana, Andrea y Víctor Eduardo.

De forma muy especial a mis tíos: Lisandro Guardado y Elena de Guardado, mis primos Juan José, Lissa y Eduardo, infinitas gracias por haberme dado toda la ayuda y el calor de un hogar en Guatemala.

A Eugenia de Castillo y Familia, a Mariela de Esquivel y Familia, a Ana Maria Arrecis y Alejandra Larios, gracias por su amistad.

A mis Amigos y Compañeros por su amistad y las vivencias compartidas: Lilly Urizar, Heber Armira, Juan Gabriel Espino, Ericka Calderón, Alejandro Oliva, Guisella Siekavizza, Osley Umaña, Fantina Guillermo, Eddy González, Ruby Escamilla, Denis Marroquin, Guillermo Gonzáles, Karen Calderón, Margarita Ramazini, Olga Chávez, Edwin Gómez, Ismael Bártres, Berni Ávila, Ligia Fuetes, Melvin Mérida, Rocío Aguilar y Melvin Cambara †.

A todos los miembros de mi familia en general, amigos y amigas gracias por estar a mi lado.

AGRADECIMIENTOS

A la República de Guatemala.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

A mis asesores, por toda su dedicación en la realización de esta tesis.

A todos mis catedráticos, gracias por el conocimiento impartido.

Al personal administrativo de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Al Lic. Carlos Leonel Oseida Gómez por toda su colaboración y amistad.

Al laboratorio de diagnóstico avícola de INAVISA en especial a la Dra. M.V. Fantina Guillermo y Jorge Calderón por su valiosa ayuda.

A la familia Espino Echeverría y Avícola María, por su amistad y colaboración.

A Rony Pérez, Supervisor de Granja La Milagrosa, por la realización del trabajo de campo.

ÍNDICE

| | | |
|------|--|----|
| I. | INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. | HIPÓTESIS | 2 |
| III. | OBJETIVOS | 3 |
| | 3.1 Generales | 3 |
| | 3.2 Específicos | 3 |
| IV. | REVISION DE LITERATURA | 4 |
| | 4.1 DESCRIPCION | 4 |
| | 4.2 SINONIMOS | 4 |
| | 4.3 ETIOLOGIA | 4 |
| | 4.4 GENOMA DEL VIRUS | 5 |
| | 4.5 COMPOSICIÓN QUIMICA | 5 |
| | 4.6 REPLICACION VIRAL | 5 |
| | 4.7 SEROTIPOS | 6 |
| | 4.8 CLASIFICACION DE CEPAS | 7 |
| | 4.9 SITUACION MUNDIAL | 7 |
| | 4.9.1 Distribución de las cepas de alta virulencia | 7 |
| | 4.9.2 Distribución de cepas variantes | 7 |
| | 4.10 EPIDEMIOLOGIA | 8 |
| | 4.11 TRANSMISIÓN | 8 |
| | 4.12 PERÍODO DE INCUBACIÓN | 9 |
| | 4.13 RESISTENCIA | 9 |
| | 4.14 PATOGENIA | 9 |
| | 4.15 MORBILIDAD | 10 |
| | 4.16 SIGNOS | 10 |
| | 4.16.1 Forma clínica | 10 |
| | 4.16.2 Forma subclínica | 11 |
| | 4.17 LESIONES | 11 |
| | 4.17.1 Lesiones macroscópicas | 11 |
| | 4.17.2 Lesiones microscópicas | 12 |
| | 4.18 DIAGNÓSTICO | 13 |
| | 4.19 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL | 15 |
| | 4.20 SISTEMA INMUNE | 15 |
| | 4.21 TRATAMIENTO | 17 |
| | 4.22 CONTROL | 17 |
| | 4.22.1 Bioseguridad | 17 |
| | 4.22.2 Inmunización | 17 |
| | 4.23 ANTICUERPOS MATERNOS | 18 |
| | 4.24 PROGRAMAS DE VACUANCION Y VACUNAS | 19 |
| | 4.24.1 Gota en el ojo | 21 |
| | 4.25 SEROLOGIA | 24 |
| | 4.26 PRUEBA DE ELISA | 25 |

| | |
|--|-----------|
| 4.27 MONITOREO SEROLÓGICO | 26 |
| 4.28 KIT DE IBD + (Plus) | 27 |
| 4.28.1 Ventajas de ELISA | 28 |
| 4.28.2 Desventajas de ELISA | 28 |
| 4.29 MÉTODO PARA OBTENCIÓN DE MUESTRAS | 28 |
| 4.30 COEFICIENTE DE VARIACION | 29 |
| 4.31 VALOR DE LOS TITULOS | 30 |
| 4.31.1 Títulos para Kit IBD + (Plus) | 30 |
| V. MATERIALES Y MÉTODOS | 31 |
| 5.1 MATERIALES | 31 |
| 5.1.1 Recursos humanos | 31 |
| 5.1.2 Recursos de laboratorio | 31 |
| 5.1.3 Recursos de campo | 32 |
| 5.1.4 De tipo Biológico | 32 |
| 5.1.5 Centros de referencia | 32 |
| 5.2 MÉTODOS | 33 |
| 5.2.1 Método de campo | 33 |
| 5.2.2 Cronograma de los protocolos | 34 |
| 5.2.3 Método de laboratorio | 34 |
| 5.2.4 Análisis estadístico | 36 |
| VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 38 |
| 6.1 Determinación de los títulos protectores | 39 |
| 6.2 Coeficientes de variación | 42 |
| 6.3 Análisis estadístico | 43 |
| VII. CONCLUSIONES | 45 |
| VIII. RECOMENDACIONES | 46 |
| IX. RESUMEN | 47 |
| X. BIBLIOGRAFIA | 48 |
| XI. ANEXOS | 52 |
| 11.1 Boleta No. 1 | 53 |
| 11.2 Boleta No. 2 | 54 |
| 11.3 Boleta No. 3 | 54 |
| 11.4 Gráfica No. 1 | 55 |
| 11.5 Gráfica No. 2 | 55 |
| 11.6 Gráfica No. 3 | 56 |
| 11.7 Gráfica No. 4 | 56 |
| 11.8 Gráfica No. 5 | 57 |

| | |
|---------------------|----|
| 11.9 Gráfica No. 6 | 57 |
| 11.10 Gráfica No. 7 | 58 |
| 11.11 Gráfica No. 8 | 58 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | |
|---|----|
| Cuadro No 1: Resultados de vacunación a diferentes edades, sangrado, Títulos y % CV de los grupos Control, A, B y C durante el estudio. | 39 |
| Cuadro No 2: Títulos Maternos Protectores de los cuatro grupos evaluados al primer día de edad de los pollitos. | 39 |
| Cuadro No 3: GRUPO A, Títulos de anticuerpos y Coeficiente de Variación. | 40 |
| Cuadro No 4: GRUPO B, Títulos de anticuerpos y % Coeficiente de Variación. | 40 |
| Cuadro No 5: GRUPO C, Títulos y % Coeficiente de Variación. | 41 |
| Cuadro No 6: Grupo Control, Títulos y % Coeficiente de Variación. | 41 |
| Cuadro No 7: Coeficientes de Variación obtenidos 15 días después de 1 ^a y 2 ^a vacunación en cada grupo y al finalizar el estudio a la 7 ^a semana. | 42 |
| Cuadro No 8: Comparación de las medias de los títulos, por Prueba de Tukey, 15 días después de primera dosis de vacuna. | 43 |
| Cuadro No 9: Comparación de las medias de los títulos, por Prueba de Tukey, 15 días post segunda vacunación. | 43 |
| Cuadro No 10: Comparación de las medias de los títulos, por Prueba de Tukey, a la 7 ^a semana. | 44 |

I. INTRODUCCIÓN

La Enfermedad Infecciosa de la Bolsa (GUMBORO) es considerada una de las patologías de mayor importancia en la avicultura a nivel mundial por las enormes pérdidas económicas que ocasiona.

El control de esta enfermedad se basa en las medidas de bioseguridad, en la aplicación de un adecuado programa de vacunación y selección del momento óptimo de administración de la primera dosis de vacuna.

La edad apropiada para la vacunación está determinada por los niveles de Anticuerpos Maternos que existan en la parvada. Para llegar a establecer un programa de vacunación, se debe implementar un monitoreo serológico y determinar los títulos en las aves.

Las pollitas para postura son muy susceptibles a la enfermedad de Gumboro y es de gran importancia la inmunización de estas por el largo período de vida productiva que tienen. Existen cepas muy virulentas las cuales causan manifestaciones clínicas aunque también se pueden manifestar en forma subclínica causando inmunosupresión lo que lleva a una respuesta pobre a las vacunas aplicadas en el ave.

Por tanto este trabajo pretende establecer la edad adecuada para la vacunación, utilizando una cepa intermedia en aves de postura, determinándolo por medio de un monitoreo serológico desde un día hasta las siete semanas de edad de las aves, y analizando los resultados que se obtendrán en la medición de niveles de anticuerpos, la edad más conveniente para implementar un programa de vacunación en una parvada.

II. HIPÓTESIS

Utilizando el esquema de vacunación de la 2^a y 4^a semana de edad en pollitas de levante para la prevención de la Enfermedad de Gumboro se obtienen mejores resultados; en la persistencia y elevación del nivel de anticuerpos, demostrados en la prueba de ELISA.

III. OBJETIVOS

3.1 GENERAL:

- Generar información que contribuya con la avicultura nacional en la identificación de planes de vacunación contra la Enfermedad de Gumboro.

3.2 ESPECÍFICOS:

- Evaluar por medio de la técnica de ELISA si existe diferencia en la respuesta inmunológica utilizando tres planes de vacunación contra la enfermedad Gumboro en pollita de levante.
- Determinar el mejor programa de vacunación contra la enfermedad de Gumboro en pollita de levante, estableciendo la edad recomendada.
- Determinar los títulos protectores para la enfermedad de Gumboro en cada uno de los tratamientos evaluados, y representados en la curva de desaparición de anticuerpos.
- Obtener el coeficiente de variación del nivel de anticuerpos contra la Enfermedad de Gumboro de las pruebas serológicas demostrado en la prueba de ELISA.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Enfermedad Infecciosa de la Bolsa (EIB)

La Enfermedad de la Bolsa de Fabricio (EBF) es una enfermedad altamente contagiosa de los pollos jóvenes caracterizada por presentar signos como: diarrea, inflamación seguida de la atrofia de la Bolsa de Fabricio y grados variables de inmunosupresión. (5)

La enfermedad de Gumboro fue descrita por primera vez en 1957 por Albert S. Cosgrove en un caso que se presentó en el poblado de Gumboro, Delaware USA. (5)

Inicialmente la enfermedad fue confundida con una forma variante de Bronquitis infecciosa. También se le llamo Nefrosis Aviar por las lesiones en las aves afectadas. El termino "Enfermedad Infecciosa de la Bolsa" fue usado por primera vez por Alles Edgar en 1966. La enfermedad ha sido reportada en muchos países en el mundo. (5,15)

4.2 SINÓNIMOS

- ✓ Bursitis infecciosa
 - ✓ Desorden infeccioso de la Bursa
 - ✓ Infección de la Bolsa de Fabricio (IBF)
 - ✓ Enfermedad Infecciosa Bursal
 - ✓ Enfermedad de la Bolsa de Fabricio (EBF)
 - ✓ Infectious Bursal Disease (IBD)
 - ✓ Enfermedad de Gumboro
 - ✓ Gumboro
- (29)

4.3 ETIOLOGÍA

El virus que causa esta enfermedad pertenece al genero *Birnavirus* de la familia *Birnaviridae*. Es un virion no envuelto con una sola cápside de simetría icosaédrica con un diámetro de entre 55 y 60 nm (Nanómetros).

El virus se clasifica en dos serotipos, la enfermedad de Gumboro se clasifica dentro del grupo del serotipo 1, existiendo considerable variación antigénica, desde cepas no patógenas hasta muy virulentas que causa hasta el 50% de mortalidad, estos virus, en contraste con los del serotipo

2 tienen tropismo por los precursores de linfocitos B de la bolsa y causan depleción de este órgano. (14)

Los virus en esta familia tienen genomas constituidos por dos segmentos de RNA de tira doble, y es de donde procede el nombre de *Birnavirus*. (4, 5, 15, 14)

4.4 GENOMA DEL VIRUS

El genoma viral consta de dos segmentos, A y B, de RNA de doble tira. El segmento "A" codifica las proteínas estructurales virales VP2, VP3 y VP4; la primera favorece la neutralización de anticuerpos y las variaciones en la secuencia de nucleótidos codificantes da como resultado variantes antigénicas. El segmento "B" codifica VP1, un péptido multifuncional que participa en la replicación y transcripción del virus. (14).

4.5 COMPOSICION QUIMICA

4 Proteínas virales: VP1, VP2, VP3 Y VP4,
VP2P, VP3, (proteínas mayores), VP1 y VP4 (proteínas menores).

Proteínas adicionales: VPX

Nueva proteína: VP5

Epitopo conformacional neutralizante dependiente (VP2)

Epitopo conformacional independiente (VP3)

Los anticuerpos para estos epitopos protegen pasivamente a los pollos.

(29)

4.6 REPLICACION VIRAL

El virus se adhiere a las células del riñón del embrión de pollo a los 75 minutos post-inoculación. (4)

Trascricpción y replicación ocurren después de la penetración a la célula sin desnudamiento del virus. (29)

El ciclo de multiplicación en las células de embrión de pollo es de 10 a 36 horas, y el período latente de 4 a 6 horas. Se detectaron polipéptidos virales en las células linfoides Bursales de pollo proliferados *in Vitro* en medio de cultivo a los 90 minutos y 6 horas posteriores a la infección, respectivamente. Se desconoce el sitio receptor de reconocimiento de la célula en el virus y el mecanismo de la síntesis del RNA viral. (4)

Se han demostrado proteínas ligadas a genoma, lo que indica que el virus replica su ácido nucleico por un mecanismo de desplazamiento de filamento. La actividad de polimerasa del RNA puede demostrarse sin pretratamiento del virus, lo que señala que se producen transcripción y replicación después de la penetración celular sin descubrimiento del virus. (4)

4.7 SEROTIPOS

La presentación de la enfermedad de Gumboro en el mundo ha sufrido una evolución considerable. En la décadas de 1960 y 1970 la forma clásica de la enfermedad predominó en el mundo, caracterizándose por la presencia de una bolsa de Fabricio edematosa al inicio, con presencia de fibrina en su parte externa, exudado caseoso en las folias internas, y hemorragia o necrosis de la misma. Esta forma típica de la enfermedad prácticamente desapareció en la década de 1980 y en los primeros años de 1990, haciendo su aparición las llamadas cepas variantes del virus caracterizadas por inducir atrofia marcada de la bolsa sin presencia de hemorragia y necrosis. A pesar del término "variante" aplicado a estas nuevas cepas, se determinó que pertenecen al mismo serotipo de cepas clásicas, clasificándose entonces en el serotipo I del virus de Gumboro. Durante los últimos 10 años, la forma clásica de la enfermedad, caracterizada por inducir alta mortalidad en las aves afectadas, ha reaparecido en algunos países Europeos, África, del medio y extremo oriente, así como en el continente Americano, con brotes reportados en Brasil y República Dominicana. Las cepas responsables de estos brotes se han caracterizado como cepas de alta virulencia (clasificadas como virus muy virulentos). (1)

MC Ferran y colaboradores, en Irlanda del Norte fueron los primeros en comunicar variaciones antigénicas entre aislamientos del VIBF de origen Europeo. Se evidenciaron entonces dos serotipos designándolos 1 y 2. Se observaron resultados similares en USA, y los serotipos estadounidenses fueron designados I y II, determinado la nomenclatura con los numero arábigos 1 y 2 para describir los dos serotipos de VIBF.

Los dos serotipos son diferenciados por pruebas de Virus Neutralización, pero no son distinguibles con pruebas de anticuerpo fluorescentes ni ELISA. La inmunización contra el serotipo 2 no preteje contra el serotipo 1. (4)

4.8 CLASIFICACIÓN DE LAS CEPAS

Mediante el test de virus neutralización se han podido identificar hasta el presente 3 serotipos del virus de Gumboro con sus respectivos subserotipos.

Subserotipos:

Serotipo1 (Cepas: Lukert, Bursa-Vac- M Edgar)

Serotipo 2 (Cepas: MO y OH)

Serotipo 3 (Descrito por Lee y Lukert)

Cepas Variantes: A, D, E y G

(29,7)

4.9 SITUACION MUNDIAL

4.9.1 Distribución de las cepas de alta virulencia en el mundo

Las cepas muy virulentas pueden causar una enfermedad aguda caracterizada por una mortalidad que puede ser devastadora. La Oficina Internacional de Epizootias (OIE) estima que esta enfermedad esta presente en más del 95% de los países miembros. La forma clínica aguda de la enfermedad causada por cepas muy virulentas se ha observado en más del 80% de estos países. Según Jackwood (2000), se ha reportado en Europa, Asia, África, América del Sur y Centroamérica. No se conoce de reportes de la presencia de cepas virulentas en los Estados Unidos, Australia o nueva Zelanda. (15)

4.9.2 Distribución mundial de las cepas variantes.

La distribución actual de las cepas variantes del virus de Gumboro alrededor del mundo resulta difícil de determinar debido a la naturaleza subclínica de la enfermedad. Estas cepas pueden pasar desapercibidas y por lo tanto no se reportan debido a que no se dispone de una prueba diagnóstica adecuada o por que la forma clínica se ha considerado un problema económico que requiere de una atención inmediata. Las cepas variantes están ampliamente diseminadas en los Estados Unidos de América. Estas cepas también se han identificado en Canadá, América Central y del Sur. (16)

Los grupos 1 y 2 contienen cepas variantes tipo Delaware, los grupos 3, 4, 5 y 6 contienen cepas clásicas. Los virus del tipo 3 se han reconocido como virus relacionados con la cepa Winterfield y los virus del grupo 5 se conocen como virus relacionados con la cepa Lukert.

Estudios realizados en muestras remitidas durante el año 2001, indicaron que virus pertenecientes a los grupos moleculares 1 y 2 se encontraron en Canadá, Perú, Colombia, El Salvador, Argentina, Guatemala, España y en los Estados Unidos. En años anteriores, estos virus fueron identificados en Venezuela, Costa Rica y Puerto Rico.

En el año 2001, virus pertenecientes a los grupos moleculares 4, 5, y 6 se encontraron mundialmente. (15)

En Europa prevalece el serotipo clásico, pero también han aparecido cepas altamente virulentas en Bélgica, los Países Bajos, regiones de Alemania y norte de Francia e Inglaterra. (16)

4.10 EPIDEMIOLOGÍA

Los pollos, pavos y patos, son huéspedes para el virus del serotipo 1 patógeno, el cual ocasiona una infección altamente contagiosa en estas aves. (14)

El virus se excreta en las heces durante un período de 10-14 días, lo cual ocasiona una alta contaminación manteniendo su capacidad de infección en el ambiente durante muchos meses. (14)

4.11 TRANSMISIÓN

La IBF es muy contagiosa y el virus es muy persistente en el ambiente de las galeras. Estudios revelaron que las galeras en las cuales se retiraron aves infectadas el virus se mantuvieron viables e infectivas para otras aves 54 y 122 días después. También se sabe que el agua, el alimento y heces tomadas de galeras contaminadas permanecen infectantes después de 52 días. No existe evidencia que se transmita a través del huevo (Transmisión Vertical) o que exista un estado de portador verdadero en las aves recuperadas. (4)

La vía de infección es la oral. Los parásitos y los ácaros de las camas son infectantes hasta por ocho semanas, mecánicamente pueden transmitirlo las aves silvestres, los seres humanos y las larvas que participan en la diseminación del virus.

El virus se disemina rápidamente de ave a ave y también por medio de fomites. (14)

Los pollos jóvenes con anticuerpos maternos son inmunes a la infección mientras las cantidades de anticuerpos sean altas, pero se vuelven susceptibles cuando los títulos disminuyen. (14, 15)

4.12 PERIODO DE INCUBACIÓN

El periodo de incubación es muy corto y los signos clínicos de la enfermedad se manifiestan en 2 a 3 días. (4)

4.13 RESISTENCIA

Los estudios han demostrado que el virus de la infección de la bolsa de Fabricio (VIBD) es muy estable.

Se ha descrito que el virus es resistente al tratamiento con éter y cloroformo, se inactiva a pH 12, pero no es afectado por un pH 2 y es viable después de 5 horas a 56° C.

El virus no se afecta a la exposición de fenol al 0.5 % ni Timerosal al 0.25 % durante 1 hora a 30° C.

Estudios realizados exponiendo el virus a tres desinfectantes (un complejo de Yodo, un derivado fenólico y un cuaternario de amonio durante un periodo de 2 min. a 323° C, solo el Yodo tuvo algún efecto perjudicial. La Cloramina a 0.5 % mata al virus después de 10 minutos a 70° C. (5, 15)

4.14 PATOGENIA

El virus afecta al tejido linfoide, destruyendo células linfoides dentro de la bolsa de Fabricio, el bazo y tonsilas cecales. Los linfocitos T no se ven afectados. Los linfocitos B y sus precursores son las células objetivo del virus.

Después de un lapso de 4 a 5 horas de la infección oral, el virus puede detectarse en los macrófagos y en las células linfoides del intestino y células de Kuppfer del hígado. La infección llega a la bolsa a través de la vía sanguínea y muchas células de este órgano contienen antígenos durante 11 horas. A continuación se produce una viremia.

El antígeno viral puede estar en la bolsa hasta 9 días después de la infección. (14)

La depleción de la bolsa, a consecuencia de la infección del virus con cepas virulentas de IBD al inicio de la vida de los pollos, puede deteriorar las respuestas inmunitarias a antígenos, pero no afecta la respuesta al virus mismo. Las consecuencias de la inmunosupresión son la disminución de la resistencia a la enfermedad y respuesta subóptima a vacunas administradas durante este período. (14)

El período de mayor susceptibilidad es entre 3 y 6 semanas de edad. Los pollos susceptibles menores de tres semanas no muestran signos clínicos, pero si tienen infecciones subclínicas que son económicamente importantes ya que resultan en una inmunosupresión elevada de los pollos. (4)

Las pollitas de levante jóvenes son más susceptibles a la enfermedad de Gumboro que las líneas pesadas, generalmente se observa la reacción clínica a la infección en el campo entre los 30 y 35 días de edad, para que el virus vacunal llegue antes que el virus de campo, es necesario hacer vacunaciones previas. (17)

Una vez las granjas comerciales de pollitas de reemplazo se han infectado, continúa un alto grado de contaminación viral en las galeras; los virus de cepas virulentas pueden romper la barrera de los anticuerpos residuales por lo menos 7 a 10 días antes de que los virus vacunales lo hagan. (15)

4.15 MORBILIDAD

En las parvadas por completo susceptibles, la enfermedad se presenta de manera súbita y hay un índice de morbilidad alto, que puede llegar al 100%. Los brotes recurrentes son menos intensos. La morbilidad es muy alta, la mortalidad es usualmente baja aproximadamente el 30%. (5)

La mortalidad es variable, pero puede llegar a un 50% dependiendo de la inmunidad, grado de contaminación con otras infecciones. En aves Leghorn la mortalidad usualmente es muy alta. (9)

4.16 SIGNOS

4.16.1 Forma clínica

Presentación aguda se observa en pollitos entre 3 y 6 semanas de edad con los siguientes signos después de un período de incubación de 2 a 3 días: depresión, diarrea acuosa blanquecina, cloacas manchadas, anorexia, plumas erizadas, renuencia al movimiento, ojos cerrados. (14)

La presentación clínica de la enfermedad de Gumboro se caracteriza por morbilidad y mortalidad alta, es producida por cepas estándares de alta virulenta.

Uno de los signos observados en infecciones tempranas es la tendencia en algunas aves a picotearse sus propias cloacas, plumas sucias en la cloaca, diarrea blanquecina o acuosa, anorexia, depresión, plumas erizadas, temblores y postración intensa. (3, 4)

4.16.2 Forma subclínica

Es la forma más benigna de la enfermedad, pudiendo producir pocos o ningunos síntomas aparte de un crecimiento subóptimo y el incremento de otras enfermedades intercurrentes aunado a una respuesta reducida a las vacunas.

La forma subclínica de la enfermedad generalmente ocurre en aves menores de 3 semanas de edad. (14, 5)

La consecuencia más importante es la presentación de un cuadro de inmunodepresión en donde se observa inflamación de la bolsa de Fabricio y posteriormente atrofia de la misma. Mientras más temprana sea la infección, más profunda será la inmunodepresión. Esto se debe a que la bolsa de Fabricio es la encargada de llevar a cabo la diferenciación y maduración de linfocitos B que van a migrar a los demás órganos y tejidos linfoides secundarios del ave. A edad temprana, estos sitios linfoides secundarios aun no se encuentran completamente poblados por linfocitos B. (3)

Las infecciones con cepas clásicas de menor virulencia pueden originar también la forma subclínica, especialmente cuando las aves se infectan a temprana edad, se han descrito brotes donde únicamente se observan disminución en ganancia de peso, incluso puede haber seroconversión con producción de anticuerpos contra el virus de Gumboro sin la aparición de signos clínicos. (3)

4.17 LESIONES

4.17.1 Lesiones macroscópicas:

Se observan Hemorragias de Petequiales a equimóticas y sufuciones en muslos, piernas, pectorales y en mucosa del pro ventrículo. Hay un aumento de moco en el intestino. El hígado puede estar inflamado y mostrar infartos periféricos con esplenomegalia. Las hemorragias que se observan son debidas al tiempo de coagulación incrementadas en pollos afectados por la enfermedad de Gumboro, estas coagulopatias contribuyen a las lesiones hemorrágicas que se observan en la enfermedad. (4)

Las alteraciones renales pueden ser prominentes en aves que mueren o se encuentran en etapas avanzadas de la enfermedad. Los riñones presentan una apariencia blanquecina y dilatación de los tubulos, debido a la presencia de uratos y restos celulares, pero no son un hallazgo consistente de la enfermedad.

Estas lesiones son muy probablemente a consecuencia de la deshidratación intensa ya que la bolsa es el órgano blanco del virus.

(4)

Hacia el 2° o 3° día posterior a la infección, la bolsa tiene un trasudado amarillento gelatinoso que cubre la superficie de la mucosa. Las estriaciones longitudinales de la superficie se vuelven prominentes.

En el tercer día de la enfermedad la bolsa comienza a agrandarse y tener mas peso debido al edema e hiperemia.

Hacia el 5° día comienza a retornar a su peso y tamaño normal, pero la bolsa continua atrofiándose y hacia el octavo día tiene alrededor una tercera parte de su peso. (4)

La bolsa de Fabricio se observa agrandada, inflamada, color cremoso, presenta hemorragias petequiales en las superficies interna y mucosa, se forma un cúmulo caseoso dentro de la luz del tejido epitelial y después de 3 a 8 días presenta atrofia.

Las lesiones en la Bursa son evidentes en ambas formas de presentación de la enfermedad clínica y subclínica. (5)

4.17.2 Lesiones microscópicas:

Las lesiones histopatológicas de la IBF se producen principalmente en las estructuras linfoides. Bolsa de Fabricio, bazo, timo, glándula de Harder y tonsilas cecales.

De acuerdo a la cepa de Gumboro involucrada, puede desarrollarse una reacción inflamatoria con heterófilos o linfocitos.

En el primer día posterior de la infección se observa degeneración y necrosis de los linfocitos en el área medular de los folículos bursales y sustitución por restos picnóticos y células reticuloendoteliales hiperplásticas. Hacia el 3° o 4° día posteriores a la infección se presenta hemorragias. Después de este tiempo todos los folículos se pueden encontrar afectados, desprovistos de linfocitos (depleción linfoide). Se

puede observar edema severo. Tan pronto como la reacción inflamatoria declina se desarrollan las lesiones crónicas, aproximadamente entre los días 7 y 8 después de iniciado el proceso. Las lesiones crónicas incluyen quistes medulares, fibroplasia de tejido y proliferación de la capa epitelial. (4)

El aumento de peso durante este período es ocasionado por un edema severo, hiperemia y acumulación notable de neutrófilos. La proliferación de la capa epitelial provoca una estructura glandular de células epiteliales cilíndricas con glóbulos de mucina.

En el bazo se observa una hiperplasia de células reticuloendoteliales alrededor de vainas adenoides en las arterias, en las etapas iniciales de la infección.

El timo y las tonsilas cecales manifiestan cierta reacción celular en el Tejido linfoide en las etapas tempranas.

Las lesiones histológicas del riñón son inespecíficas y suceden debido a la deshidratación intensa de los pollos afectados. Se observan cilindros grandes de material homogéneo infiltrado con neutrófilos.

Se ha observado una reducción en el número y tamaño de las microvellosidades de las células epiteliales a las 48 horas posteriores a la inoculación. Hubo una pérdida gradual de los folículos en botón que se observan normalmente en la superficie, y a las 72 horas presentando una involución en su mayor parte. (4)

Los cambios histológicos de la bolsa reflejan repuesta inflamatoria inicial con hiperemia, edema e infiltración de heterófilos acompañados por necrosis de células linfoides B.

Se produce Hiperplasia de células reticuloendoteliales y de tejido ínter folicular; si la respuesta inflamatoria aguda disminuye, el epitelio corticomedular prolifera y se desarrollan cavidades quísticas en las áreas medulares de los folículos. En el bazo y las tonsilas cecales puede suceder necrosis de células linfoides y depleción de células plasmáticas en la glándula Harderian. (14, 3,4)

4.18 DIAGNÓSTICO

La historia de la parvada, los signos clínicos y las lesiones microscópicas sirven para el reconocimiento de la enfermedad aguda.

La confirmación del diagnóstico se puede establecer en la necropsia mediante el examen de alteraciones características visibles en lesiones microscópicas en la bolsa de Fabricio, tomando en cuenta el curso de la infección. (4)

Las infecciones de pollos jóvenes o pollitos con anticuerpos maternos suelen ser subclínicas y se diagnostican respectivamente en la necropsia con observación de atrofia bursal macroscópica e histológica.

La bolsa de Fabricio y el bazo son los tejidos periféricos para el aislamiento del VIBF. (4)

Para confirmar el diagnóstico se puede utilizar un macerado de la bolsa como antígeno y sueros sanguíneos positivo en la prueba de difusión en Gel con un antisuero positivo conocido. También se pueden realizar cortes histológicos de tejidos para observar lesiones típicas, detección de anticuerpos por inmunofluorescencia en cortes o frotis de bolsa congelados y ELISA.

El aislamiento viral se puede emplear usando membrana corioalantoidea de huevos embrionados de 10 a 11 días de edad. Después de la infección se desarrollan anticuerpos que pueden detectarse mediante neutralización, ELISA o pruebas de difusión en Agar Gel. (14, 9)

Existen diversos métodos para realizar el diagnóstico de la enfermedad de Gumboro. Cada metodología tiene sus ventajas y desventajas. En términos generales las diversas técnicas de diagnóstico de la enfermedad se pueden resumir en:

- Aislamiento del agente viral en condiciones *in Vitro*
- Detección de antígenos en tejidos de aves
- Observación de las lesiones microscópicas e histopatológicas
- Medición de los niveles de anticuerpos circulantes
- Técnicas moleculares: Técnica de RT-PCR (Reacción en cadena de la polimerasas).
- Tipificación por RFLP (Análisis de Polimorfismo de los fragmentos en restricción).
- HMA (Análisis de la movilidad de heteroductos)

(3)

En la actualidad, el procedimiento de ELISA es la prueba serológica más comúnmente empleada para la evaluación de anticuerpos contra VIBF en parvadas domésticas. Investigadores han demostrado e informado acerca el uso de ELISA y su comparación con los resultados de la prueba de VN (virus neutralización). La prueba de ELISA tiene la ventaja de ser

una prueba rápida cuyos resultados pueden ingresar con facilidad a programas de computación.

Con estos programas se puede establecer un perfil de anticuerpos en las parvadas que indicara el nivel de inmunidad y proporcionara información para el desarrollo de programas de inmunización apropiados tanto para las parvadas de crianza o reproductoras y como para su progenie. (4)

4.19 DIAGNOSTICO DIFERENCIAL

En casos de EIB subclínica puede ser necesario un diagnóstico diferencial que incluya coccidiosis, enfermedad de New castle, síndrome hemorrágico, avitaminosis A, síndrome del hígado y riñón grasos, deshidratación. (14)

Por el cuadro de nefrosis de algunas cepas nefrotóxicas del virus de la bronquitis infecciosa, causa las hemorragias musculares y las de mucosas que se observan en la molleja y proventrículo son similares a las observadas para el síndrome hemorrágico. La enfermedad de Marek puede causar atrofia de la Bursa. También se reporta la diferenciación con Adenovirus aviar tipo 8. (4)

Debe hacerse también diagnóstico diferencial con el virus de la Anemia Infecciosa de las aves, los Reovirus y Agentes tóxicos como las Aflatoxinas. (15)

4.20 SISTEMA INMUNE

El sistema inmune de las aves esta constituido básicamente por dos grandes grupos de células: linfocitos B, los cuales se diferencian en la Bursa de células primordiales provenientes de la medula ósea, y linfocitos T, que también son células derivadas de la medula ósea pero se diferencian en Timo.

La única función de los linfocitos B es la producción de millones de moléculas proteicas, llamadas Anticuerpos, que constituyen la inmunidad humoral, ya que puede ser transferida de un individuo a otro a través del suero, mientras que los linfocitos T median la inmunidad celular y son encargados de destruir células infectada por microorganismos y de regular el funcionamiento global del sistema inmune. El sistema inmune cuenta con tres características básicas que son: Especificidad, Diversidad y Memoria.

(2)

Cuando las aves se ven afectadas por un agente infeccioso, los linfocitos B producen anticuerpos que sirven como primera línea de defensa para neutralizar al agente evitando que la infección produzca el cuadro patológico de IBF. Los anticuerpos que se producen son específicos para cada enfermedad.

Los anticuerpos en la sangre no se detectan hasta las dos semanas después de la infección, debido a que los linfocitos B estimulados necesitan tiempo para dividirse y diferenciarse en células plasmáticas que son las especializadas en la producción de anticuerpos, los cuales tienen que alcanzar una concentración mínima en la sangre, que permita su detección. (2)

En una primera infección, la respuesta de anticuerpos desatada se denomina "Respuesta primaria", constituida por anticuerpos de la clase IgM, los cuales son moléculas especializadas en neutralizar y eliminar virus y bacterias. Adicionalmente, cuando la parvada es expuesta nuevamente al mismo agente infeccioso, el sistema inmune reacciona produciendo mayor concentración y mejor calidad de anticuerpos, los cuales ahora son en su mayoría de la clase IgG.

Esta segunda reacción del sistema inmune al mismo agente infeccioso se denomina "Respuesta secundaria" y evidencia una memoria inmunológica. (2)

La exposición de campo al virus o a las vacunas ya sea con vacuna viva o muerta estimula inmunidad activa. La respuesta de anticuerpo puede medirse por varios métodos pruebas como: Virus neutralización, Prueba de Agar Gel o ELISA.

Las concentraciones de anticuerpos normalmente son muy elevadas después de la exposición de campo o vacunaciones, y son comunes títulos de virus neutralización superior a 1:1000; las aves adultas son resistentes a la exposición oral al virus, pero producen anticuerpos después de la inoculación del virus.

Los anticuerpos transmitidos por la madre a través de la yema del huevo pueden proteger a los pollitos contra infecciones tempranas contra VIBF, el resultado es protección contra el efecto inmunosupresor del virus. La vida media de los anticuerpos maternos contra VIBF es de 3 a 5 días. Conociendo el título de anticuerpo de la progenie puede predecirse el tiempo en el cual los pollitos se vuelven susceptibles. (4)

El embrión en desarrollo y los pollos recién nacidos absorben el anticuerpo de la yema del huevo. Los niveles de anticuerpos maternos se alcanzan en los pollos de 1 a 3 días de nacidos cuando la membrana de la

yema es absorbida. El anticuerpo materno normalmente desaparece dentro de los 14 a los 21 días después de haber nacido. (23)

La inmunosupresión causada por la enfermedad de Gumboro Depr. - me la respuesta a las vacunas y estudios realizados demuestran que los pollos se vuelven más susceptibles a la hepatitis con cuerpos de inclusión, coccidiosis, enfermedad de Marek, anemia aplásica, hemorrágica, dermatitis gangrenosa, laringotraqueitis infecciosa del pollo, salmonelosis y colibacilosis. Mientras hay inmunosupresión contra estas enfermedades la propia respuesta inmune con VIBF es normal. El virus de la IBF deteriora los sistemas inmunitarios humoral y local. (4)

4.21 TRATAMIENTO

No se ha encontrado terapéutica o tratamiento de soporte alguno que cambie el curso de la infección por VIBF. No hay reporte en la literatura referente al uso de algunos de los compuestos virales nuevos y de inductores de interferón para el tratamiento de la IBF. (4)

4.22 CONTROL

Las explotaciones avícolas modernas son cada vez más susceptibles a la introducción y diseminación de diferentes enfermedades.

Estas enfermedades son prevenidas primero, mediante medidas de bioseguridad (evitando el contacto de las parvadas con agentes patógenos) y segundo, por medio de inmunizaciones con una variedad de productos biológicos vivos e inactivados. (28)

4.22.1 Bioseguridad

Limpieza y desinfección completa con formaldehído y yodoforos de las casetas entre una parvada y otra, así como la práctica de manejo de "todo dentro – todo fuera" reduce la exposición al virus.

4.22.2 Inmunización

El control de IBD depende del uso de vacunas, los anticuerpos neutralizantes son protectores y pueden obtenerse en la forma de Anticuerpos Maternos (AM) a partir de gallinas inmunizadas o como anticuerpos activos mediante la inmunización de los pollitos con vacunas vivas. (14)

La vacunación con una vacuna intermedia puede no ser efectiva en aves con anticuerpos maternos altos.

Los programas de vacunación por si solos no son exitosos debido a la alta resistencia natural del virus. (5)

La inmunidad materna no protege contra la forma clínica de Gumboro. La vacunación contra la forma clínica se realiza ampliamente pero el éxito puede variar debido a que resulta difícil hacer coincidir el momento de la vacunación con la disminución de la inmunidad materna. Además, la variabilidad antigénica entre las cepas naturales del virus de Gumboro es un factor importante a considerar para la seleccionar la vacuna con las características antigénicas mas adecuadas. (15)

4.23 ANTICUERPOS MATERNOS

En la progenie la cantidad de anticuerpos Maternos (AM) declina con el tiempo y protegen contra exposiciones virulentas entre las 2 ½ y 3 ½ semanas de edad de los pollitos. Las cepas vacunales benignas que no causan lesiones en la bolsa no pueden ser eficaces en pollitos con AM altos hasta las cuatro semanas de edad ya que son neutralizados.

Las vacunas con virulencia moderada ó Intermedias que son menos afectadas por los AM, se pueden administrar con cierto éxito entre las 2 ½ y las 3 semanas dependiendo de los títulos maternos de AM. La vacunación repetida se practica con el fin de asegurar la inmunización activa en los pollitos tan pronto como los AM disminuyan a grado tal que no neutraliza la vacuna. (13)

La inmunización es el método principal usado para el control de la IBF en pollos, es muy importante para la inmunización de parvadas de reproductoras de manera tal que se transmita inmunidad de los progenitores a su progenie. Los anticuerpos maternos protegerán normalmente de 1 a 3 semanas.

El principal problema consiste en determinar el tiempo apropiado para la vacunación. Esto varia con los niveles de anticuerpos maternos apropiados, vía de vacunación y virulencia del virus de la vacuna.

El stress y manejo ambiental pueden ser factores que se deben considerar cuando se desarrolla un programa de vacunación que sea eficaz. La vigilancia de los niveles de anticuerpos en las parvadas reproductoras y en la progenie (perfil de anticuerpo) puede ayudar a determinar el tiempo apropiado para vacunar. (2)

4.24 PROGRAMAS DE VACUNACION Y VACUNAS

La vacunación consiste en infectar sin causar la enfermedad. Esto implica diseñar una vacuna que simule muy de cerca al agente infeccioso, tanto en su apariencia antigénica exterior, dosis, vía de entrada y tiempo de permanencia en el ave, con el propósito de estimular al máximo su sistema de defensa, pero sin causar la enfermedad. (2)

La producción de vacunas contra la enfermedad de Gumboro es quizás una de las más dinámicas en cuanto a variedad y desarrollo constante de nuevos productos. Esto hace que la tarea de diseñar un programa de vacunación sea cada vez más compleja. Las vacunas a virus vivo se utilizan para proteger una buena parvada durante las primeras semanas de vida y para generar una buena memoria inmunológica antes del uso de las vacunas inactivadas.

Existen tres tipos de vacuna a virus vivo que se conocen como suaves, intermedias y virulentas, esta clasificación describe el grado de patogenicidad de estas vacunas en aves susceptibles. (28)

En los últimos años se han producido vacunas con cepas variantes suaves e intermedias que se utilizan solamente en ciertas áreas de los EUA. También han aparecido en el mercado una vacunas virus vivo que incluye una cepa convencional y dos cepas variantes (vacuna Trivalente) que se ha clasificado como de tipo intermedio

Las vacunas inactivadas también pueden incluir cepas convencionales y variantes. Estas vacunas son producidas en cultivos celulares o en embriones de pollo. (28,7)

En los últimos años también se han producido vacunas inactivadas que contiene homogenizados de bolsa de aves infectadas, (teóricamente con el fin de aumentar su antigenicidad).

En la literatura aun no se cuenta con suficiente evidencia que apoyen los resultados aparentemente satisfactorios de estos productos en el campo. (28)

En la industria avícola existen dos tipos de vacunas:

Las llamadas vacunas "Vivas" y las vacunas "Muertas". Las primeras son producidas manipulando al agente infeccioso de tal manera que aunque este vivo y mantenga su apariencia antigénica, al ser aplicada en la dosis y por la vía adecuada, es capaz de estimular al máximo al sistema inmune sin causar la enfermedad. Esto se logra atenuando al agente infeccioso usando diversos mecanismos que limitan su capacidad de multiplicarse en el ave, permitiendo al sistema inmune al tiempo necesario

para montar una respuesta eficiente que logre neutralizarlo. Mientras que las vacunas muertas están constituidas por microorganismos en los cuales se ha preservado la apariencia externa natural del agente infeccioso, pero se ha eliminado por completo su capacidad de división. (2, 4)

Las vacunas muy virulentas han sido retiradas del mercado. Las cepas disponibles hoy día son de virulencia intermedia y cepas altamente atenuadas.

Las cepas intermedias varían en su virulencia y pueden producir atrofia de la bolsa e inmunosupresión en pollos SPF de 1 día y de 3 semanas de edad. Si los títulos de anticuerpos VN maternos son inferiores a 1:100, los pollitos pueden ser vacunados, con cepas avirulentas del virus. (4)

El virus de la vacuna se replica en el timo, bazo y bolsa de Fabricio, donde persiste durante dos semanas. Una vez que se cataboliza el anticuerpo materno hay una respuesta de anticuerpos primaria al virus de vacunas persistente.

El momento apropiado para la vacunación con vacunas atenuadas e intermedias varia desde las 7 días a las 2 o 3 semanas. (4)

Las aves jóvenes deben recibir la vacunación tan pronto como estas se hagan susceptibles. Con las vacunas intermedias clásicas, se ha llegado a ajustar la fecha de vacunación, dependiendo de la cantidad de anticuerpos maternos residuales o a usar múltiples vacunaciones.

Se han propuesto nuevas estrategias de control para vacunar a las aves jóvenes enfrentando los anticuerpos maternos, como:
Uso de vacunas vivas menos atenuadas (caliente o intermedia)

Investigaciones previas han demostrado que el tiempo óptimo para la vacunación de los pollitos con una cepa intermedia de vacuna viva es a los 18–20 días y otra a los 28–30 días de edad. En casos de desafíos de Gumboro extremadamente severos puede que requieran vacunaciones aún más frecuentes durante este Período. (12)

Las vacunas vivas por lo general contienen un solo antígeno y pueden administrarse por medio de aerosoles, agua de bebida, gotas en el ojo y en algunos casos por inyección.

4.24.1 Gota en el ojo

De todos los métodos de administración de vacunas vivas, probablemente el más eficaz es el de las gotas en el Ojo y en la vía intranasal, aunque se invierte mas tiempo es un buen método de aplicación. La precisión es importante, por lo que, antes de liberar al ave, la vacuna debe desaparecer después de un parpadeo cuando la gota esta en el ojo.

Este método es muy eficaz para que cada ave reciba la dosis completa. (14)

En las vacunas vivas se requiere una cantidad un poco menor de antígeno ya que el virus se multiplicara con rapidez en los órganos blancos. Este tipo de vacunas pueden estimular la producción de inmunidad local o de la mucosa, así como también inmunidad general. (14)

Se ha demostrado que una profilaxis satisfactoria con las vacunas intermedias ofrece protección contra las formas clínicas y subclínicas de la enfermedad de Gumboro.

Las cepas intermedias constituyen las vacunas mas utilizadas para controlar la enfermedad de Gumboro. En las reproductoras y ponedoras en crianza y desarrollo generalmente se aplican 2 vacunas a virus vivo, seguidas por vacuna inactivada.

Existen vacunas preparadas con numerosas cepas entre las cuales se pueden mencionar la cepa Lukert con sus derivados, la Winterfield (2512), la S706, la ST12, la cepa Moulthrop., la D78 y muchas mas usadas en distintos países. (27)

Uno de los conceptos fundamentales de la vacunación contra la enfermedad de Gumboro es la protección constante. Al nacer las aves están protegidas de la enfermedad por los anticuerpos maternos. Los pollitos pierden la protección a medida que crecen y se van sensibilizando gradualmente a la enfermedad. Las aves que son futuras ponedoras se hacen sensibles desde los 30 días. Los anticuerpos son altamente protectores y no permiten que las aves sean vacunadas en una fase temprana ya que estos anticuerpos maternos neutralizan el virus de la vacuna. La vacunación procede una vez que los niveles de anticuerpos sean lo suficientemente bajos, pero no demasiado bajos. (10)

Muchos estudios han demostrado que al vacunar con altos títulos de AM evita que la vacuna se instaure apropiadamente y no proporciona

seroconversión. Una vez que la vacunación se ha completado en el momento apropiado, las aves estarán bien inmunizadas.

Los estudios de laboratorio han demostrado que los primeros anticuerpos detectados por la prueba de ELISA se hacen desde los cuatro días post vacunación. (10)

La fecha de vacunación debe determinarse para perfeccionar los resultados de la vacuna. Estos permiten una transmisión sin interrupción entre la inmunidad pasiva y la inmunidad activa inducida por las vacunas. Esto también asegura una inmunización constante de las aves contra la enfermedad de Gumboro y que los títulos de anticuerpos no caigan bajo el umbral de protección.

La fecha de vacunación es determinada a partir del título promedio de los pollitos entre 1 y 3 días de edad y de la reducción de esta a medida que los pollitos van creciendo. Todos los resultados son más precisos cuando los títulos de anticuerpos determinados por ELISA son homogéneos, a mayor homogeneidad el título promedio es más representativo de la población.

La calidad de las vacunas, su conservación y administración son los factores dominantes de los resultados de la homogeneidad esperados (10)

El control de la enfermedad de Gumboro se basa en la correcta selección y aplicación de vacunas. Generalmente las vacunas clasificadas como intermedias son efectivas en la gran mayoría de los casos, aunque en algunas ocasiones puede ser necesario emplear vacunas preparadas con cepas con mayor capacidad invasora y por consiguiente, con mayor patogenicidad, para controlar cepas de campo muy virulentas. En países donde se han presentado estos casos, generalmente se regresa al uso de cepas intermedias después de un corto tiempo, aunque en algunas situaciones las cepas muy virulentas se han podido controlar utilizando solamente cepas intermedias, sin necesidad de recurrir al uso de cepas más "agresivas". (1)

La vacunación contra IBD es la prevención de la enfermedad clínica y subclínica y los aspectos económicos de cada una de ella.

La vacunación contra IBD se logra utilizando dos conceptos básicos:

- Los niveles altos de anticuerpos maternos son protectores.
- La vacunación en el campo induce protección empezando antes de 5 días post-vacunación. (19)

Para establecer un programa de vacunación contra la enfermedad de Gumboro se tienen que tomar en cuenta aspectos como:

- Las características antigénicas e inmunogénicas de las cepas de campo y vacunales prevalentes en la zona
- La edad de las aves a vacunar
- La naturaleza de las vacunas disponibles.
- Niveles de la inmunidad materna

(6)

Los programas de vacunación se diseñan para reducir o evitar las pérdidas económicas ocasionadas por la enfermedad en aves vacunadas, su progenie o ambas. Al establecer un programa de vacunación deben considerarse también los factores inmunológicos como comerciales incluyendo los siguientes.

- La salud general de la parvada y el patrón local de la enfermedad.
- No deben aplicarse la vacuna en aves enfermas.
- El tipo genético y la función del ave
- La protección a corto y largo plazo que se requieren

Las vacunaciones y enfermedades que hubo en la generación previa puede influir en el estado de los anticuerpos maternos, los que pueden tener un efecto muy significativo en el diseño de programas de vacunación en el caso de Enfermedad Infecciosa de la Bursa, es imposible vacunar cuando existen anticuerpos maternos altos. (14)

La efectividad con programas de vacunación se puede evaluar actualmente por seguimientos serológicos de los lotes de aves. Existen diferentes métodos para conocer los niveles de anticuerpos en las aves. Cada uno de ellos con sus respectivas ventajas y desventajas. (28)

La primera vacuna con licencia se derivó de una cepa leve que lograron adaptar al embrión de pollo. Steve Hitchner en 1970 encontró que los embriones derivados de madres inmunes a IBD eran resistentes a la infección por este agente. En ese mismo tiempo, el efecto de los anticuerpos maternos se desconocía. Hitchner en 1971 encontró, que los anticuerpos maternos protegen a los pollitos contra daño a la bolsa así como contra signos clínicos de enfermedad al desafío hasta las 3 semanas de edad. (24)

Los virus usados en las vacunas vivas son propagados comúnmente en embrión de pollo o en cultivos de tejidos. Las vacunas inactivadas también contienen virus propagados de embriones de pollo o cultivos de tejidos. En adición, homogenizados de la bolsa de Fabricio de pollos inoculados con el virus se usan para producir vacunas inactivadas.

La mayoría de cepas usadas para producir vacunas vivas e inactivadas en los EE UU pertenecen al serotipo Clásico y variante. Los virus vivos clásicos vacunales varían en su virulencia y han sido clasificados como cepas suaves, intermedia y las llamadas calientes.

Las cepas intermedias constituyen las vacunas mas utilizadas para controlar la enfermedad de Gumboro. (6, 8)
Las vacunas de IBDV vivo de origen de embrión de pollo o cultivo celular y de virulencia variable, pueden administrarse por gota ocular, agua de beber o vía subcutánea. (21)

La Vacuna viva liofilizada a virus vivo atenuado, clone purificado contra la enfermedad de Bursitis infecciosa (Gumboro).

La administración puede ser:

- Oculo-nasal
- En el agua de bebida
- Por aspersion

Titulo mínimo: 1000 dosis (280 mg de liof). 10 EID 50.
Virus de Bursitis Infecciosa cepa CU1M clonada y purificada
(18)

El momento de la vacunación es muy crítico, una vacunación muy temprana solo neutraliza los anticuerpos maternos. Si se administra muy tarde, el virus de campo infectara primero. En la mayoría de los casos, los virus de campo pueden sobrepasar los niveles altos de anticuerpos maternos mejor que la mayoría de las vacunas.

Se recomienda vacunar contra la enfermedad de Gumboro por lo menos dos veces, alrededor de los 20 y 30 días de edad. Es casos mas difíciles vacunar mas frecuente, pero alrededor del mismo periodo, como a los 20, 25, y 30 días o a los 20, 24, 28, y 32 días.
(17)

Las aves nacidas con altos títulos de anticuerpos pueden recibir una vacuna intermedia solo algunos días después mas tarde que las que nacen con títulos moderados. (16)

4.25 SEROLOGIA

La serología en una rama de la inmunología aplicada, a la detección de anticuerpos en el suero. En el suero se encuentran los anticuerpos secretados por las células plasmáticas que radican principalmente en los

tejidos linfoides secundarios como: el bazo, y los núcleos linfoides diseminados en el tracto digestivo y respiratorio.

La concentración linfoide en el suero es una evidencia del nivel de inmunidad humoral que posee el ave, y mientras mas alta este la concentración de anticuerpos en el suero, mayor es la capacidad del ave de neutralizar y destruir a determinado agente infeccioso.

La concentración de anticuerpos en el suero se expresa en su Titulo; el cual se define como "La mayor dilución del suero que da una reacción positiva".

Los títulos de un suero van a variar dependiendo de la sensibilidad de la técnica serológica que se usan para medir la concentración de anticuerpos. (2)

4.26 PRUEBA DE ELISA

En años recientes la prueba de ELISA ha sido utilizada ampliamente para cuantificar los anticuerpos de VIBD.

Las técnicas serológicas más usadas en la industria avícola son: en forma ascendente: Inmunoprecipitación en agar (IPA), Aglutinación (AG), Virus Neutralización (VN), Inhibición de aglutinación (HI) y Enzima Inmunoenzayo (ELISA). Todas estas pruebas detectan la presencia de anticuerpos en el suero al hacerlos reaccionar con el antígeno específico que los indujo. (2)

La vacunación se puede monitorear serologicamente por la técnica de ELISA, esta prueba tiene alrededor de 15 años de uso en la industria avícola y ofrece muchas ventajas.

En la prueba de ELISA el antígeno (una fracción purificada del microorganismo infeccioso) esta físicamente ligado a 96 pozos de una microplaca plástica, en los cuales se colocan diluciones apropiadas de los sueros que se quieren analizar. Si los sueros contienen anticuerpos contra el organismo, estos se adhieren al antígeno en los pocitos y son detectados al añadir un segundo anticuerpo específico para los anticuerpos del ave. Este segundo anticuerpo esta marcado con una enzima, de tal manera que en los pocitos en que se adhirieron anticuerpos al antígeno, también se adhiere el segundo anticuerpo marcado con la enzima y, al añadir el sustrato a la microplaca, la enzima hace que se revele un color.

Entre más intenso este el color, mayor es la concentración de anticuerpos en el suero. Usando la técnica de ELISA, el titulo en el suero se determina objetiva y cuantitativamente al medir la intensidad del color

en un espectrofotómetro, el cual se expresa en unidades de densidad óptica (D.O.). (2)

Elisa es una técnica ampliamente usada en el monitoreo serológico de los programas de vacunación y de salud avícola, es una técnica muy sensible, con capacidad de detectar concentraciones muy bajas de anticuerpos y, aunque no es capaz de determinar el serotipo del virus infectante, identifica con alta especificidad.

Para utilizar adecuadamente las pruebas de ELISA es necesaria la creación de bases de datos que incluyan los niveles de anticuerpo a diferentes etapas del ciclo. La creación de esta base de datos facilita la comparación de diferentes programas de vacunación así como la detección de variaciones en el comportamiento habitual de los niveles de anticuerpos. (3)

Su mayor ventaja radica en su reproducibilidad y capacidad de analizar muchos sueros en un corto periodo de tiempo, también proporciona un programa de computación capaz de realizar análisis estadísticos de la gran cantidad de datos analizados. (2)

Dentro de las principales aplicaciones de la prueba de ELISA se pueden mencionar:

Evaluación del desempeño de los esquemas de vacunación y la determinación de la magnitud de la exposición con virus de campo
Predecir los niveles de inmunidad materna en la progenie y determinar la edad mas adecuada para la primera vacunación

La prueba de ELISA puede resolver la interrogante con respecto a la edad óptima para la vacunación con las cepas vacunales intermedia o de baja patogenicidad durante el período de disminución de los niveles de anticuerpos maternos. (16)

4.27 MONITOREO SEROLÓGICO

Se tienen que tomar muestras de sangre de aves pertenecientes a una parvada de la misma edad, la cual ha sido sometida a un determinado programa de vacunación y manejada bajo las mismas medidas de higiene y bioseguridad. De tal manera que del análisis de aves, usualmente de 18 a 45 muestras, los resultado obtenidos se pueden explotar a parvadas de 5000 a 20000 aves. Dicho monitoreo serológico se

denomina "Perfil serológico" de la parvada el cual pone especial atención a la intensidad y uniformidad de la respuesta inmune. (2)

Es necesario monitorear los niveles de protección transferidos por las reproductoras a los pollos recién nacidos y destinados a ser reproductoras o ponedoras para determinar adecuadamente el día en que se deben aplicar las primeras vacunas. (2)

La individualidad de la inmunidad es claramente demostrable si se observan los resultados de los análisis serológicos que se emplean para evaluar un lote de aves desde el punto de vista inmunológico.

Dentro de las muestras que se tomen y se analicen se encuentran diversos títulos. No es usual que todas las muestras se encuentren en un solo título.

El hecho de que se encuentren aves con menos títulos que otras, aunque no necesariamente quiere decir que esas aves van a enfermar, si indica al menos que su respuesta medida en anticuerpos circulantes, fue menor que la de otra de su mismo grupo. Cada ave constituye un sustrato distinto y dará una respuesta acorde a su potencial inmunológico. Es necesario evaluar los análisis serológicos en base a medidas geométricas logarítmicas, determinación de desviación estándar y el coeficiente de variación. (11)

4.28 KIT DE ELISA IBD + (Plus)

Esta prueba utiliza un antígeno nativo de IBD de la Bursa para recubrir las placas de ELISA; el cual ha demostrado una mayor sensibilidad a la detección de anticuerpos específicos para una amplia gama de antígenos de VIBD.

La mayoría de las vacunas comerciales contra Gumboro han sido elaboradas con virus derivado de la Bursa, por esto el antígeno adherido a las placas en IBD plus es también derivado de la Bursa. (8)

Permite la detección de la población de anticuerpos que median protección contra infecciones de IBDV.

Detecta con alta especificidad y similar sensibilidad anticuerpos inducidos por las deferentes cepas del virus de IBD.

Esta prueba de ELISA tiene una alta correlación con la prueba de Virus Neutralización, dando una medición más exacta a nivel de anticuerpos neutralizantes inducidos por los programas de vacunación contra Gumboro, así como también de los niveles de protección transferidos por las reproductoras a la progenie.

El Kit de ELISA detecta anticuerpos inducidos por cepas de VIBD, tanto clásicas como variantes. Detecta uniformemente las respuestas vacunales, exhibiendo coeficientes de variación bajos, por lo que permite manejar mejor los planes de vacunación. (24)

Detecta anticuerpos maternos significativos hasta los 20 días de edad de la progenie, similares a los que detecta la prueba de Virus Neutralización. (24)

4.28.1 DESVENTAJAS DE ELISA

- ✓ Se limita a la detección de los anticuerpos circulantes contra Gumboro sin establecer el poder neutralizante respecto al virus
- ✓ Es específica para un grupo de antígenos
- ✓ No diferencia serotipos
- ✓ No provee información en el manejo de la enfermedad, respecto a la que proporcionan las pruebas de Virus Neutralización y HI.
- ✓ El equipo para la lectura de las placas es de alto costo

(25, 26)

4.28.2 VENTAJAS DE ELISA

- ✓ Prueba rápida
- ✓ Determina el período apropiado de vacunación a medida que se ejecuta el seguimiento serológico.
- ✓ Proporciona una imagen global del ingreso de la vacuna en el brote.
- ✓ Es altamente sensible (20)

4.29 MÉTODO PARA LA OBTENCION DE LAS MUESTRAS

Para elaborar un perfil de anticuerpos en una parvada para la evaluación de la eficacia de los programas de vacunación, deben probarse no menos de 18 sueros. (4)

Inmediatamente después de obtener cada muestra de sangre de las aves, se coloca dentro de un vial limpio y seco, identificado correctamente.

Los cuales deberán mantenerse en posición inclinada durante 30 minutos para facilitar la separación del suero. Si no se cuenta con viales, las muestras de sangre también pueden colocarse en pajillas de plástico transparentes. Se prefieren las pajillas transparentes por que en ellas se ve fácilmente la separación del suero y el coágulo.

Primero se doblan aproximadamente un tercio (1/3) de la pajilla, para retener la sangre en su interior. Luego de haber colocado la sangre dentro de la pajilla se dobla el resto sin sangre, para cerrar el extremo opuesto y se identificaron correspondientemente. Las muestras del suero que se envían al laboratorio, deben colocarse con bolsas de hielo en una hielera. Las muestras no deben mantenerse a temperatura ambiente por excesivo tiempo. (23)

4.30 COEFICIENTE DE VARIACIÓN

La uniformidad a la respuesta inducida, o la magnitud de la variación de los títulos de las aves analizadas alrededor del título promedio de la parvada es importante de analizar. En el programa de computación de la prueba de ELISA dicha uniformidad se refleja en el "Coeficiente de variación" de los títulos individuales. Se desea que los títulos sean altos y que posean un coeficiente de variación bajo, lo cual significa que se ha alcanzado un nivel de protección adecuado y un respuesta uniforme.

El coeficiente de variación de una parvada adecuadamente vacunada tiene que ser bajo, reflejando que ha sido vacunada con la misma dosis y al mismo tiempo. El coeficiente de variación es un indicador de dispersión del valor individual que contempla la media del título. Nos permite hacer una interpretación completa del título de la media, gracias a que limita el título individual en torno a la media. (2,10)

Cuando los títulos de anticuerpos de la parvada tienen una distribución normal, la uniformidad de los títulos ELISA son un excelente método para determinar la efectividad de un programa de vacunación. Si el % coeficiente de variación (CV) es alto o mayor de 50%, probablemente se trate de una distribución de títulos anormales o bimodal, que en ambos casos indica que la respuesta de la parvada no es uniforme. Algunas de las posibles causas de un % CV alto pueden ser: Administración incompleta o no uniforme de vacunas, la exposición precoz de la parvada a un agente infeccioso o la toma de muestras a la parvada demasiado pronto después de la vacunación.

El coeficiente de variación se interpreta de la siguiente manera:

| | |
|----------|-----------------------|
| < a 30 % | Muy Homogénea |
| 30-50% | Homogénea |
| 50-80% | Escasamente homogénea |
| > a 80% | Heterogénea |
| > a 150% | Muy heterogénea |

$$\% \text{ CV} = \frac{\text{Desviación Estándar de los títulos}}{\text{Media aritmética del título}} \times 100 \quad (10,22)$$

La homogeneidad de la muestra y de la población, se evalúa con la distribución de los títulos en categorías y con el coeficiente de variación. (10)

4.31 VALOR DE LOS TÍTULOS

Los niveles de los títulos se expresan de dos maneras en los informes obtenidos: Media aritmética Promedio (MEAN) y Media Geométrica Promedio (GMT).

El promedio aritmético es una buena representación de los títulos de la parvada cuando los resultados están normalmente distribuidos.

El GMT es una mejor representación del título de la parvada cuando los títulos están anormalmente distribuidos (distribución binomial)

4.31.1 Títulos para kit IBD + (Plus)

Título mínimo reportado por el fabricante del Kit IBD plus es de: 1003

Títulos deseados después de vacunación con vacunas vivas: El título promedio aritmética de la parvada debe ser de 9,000 a 14,000.

Títulos deseados después de la vacunación con vacunas muertas: El título promedio de la parvada debe ser de 12,000 a 18,000.

Los títulos mínimos protectores para IBD plus oscilan entre 4,000 a 6,000 para aparvadas con respuestas muy uniformes o bajo % CV.

Se considera convencionalmente que los títulos de ELISA para Gumboro son positivos por sobre los 1000 - 2000. (22)

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 MATERIALES

5.1.1 Recursos humanos

- ✓ 2 Asesores de la Facultad de Medicina Veterinaria
- ✓ 1 Asesor de campo
- ✓ Personal de laboratorio de INAVILAB
- ✓ Personal de granja
- ✓ Estudiante investigador

5.1.2 Recursos de laboratorio

Kit de ELISA SIMBIOTICS IBD plus

- ✓ 3 placas de ELISA IBD plus
- ✓ Micropipeta multicanal de 10 μ l a 300 μ l
- ✓ Micropipeta unicanal de 0.5 μ l a 10 μ l
- ✓ Microplacas con antígeno de IBD
- ✓ Agua destilada estéril
- ✓ Solución Buffer (Carbonato de Sodio)
- ✓ Solución preparada para lavado de placas (Buffer de Fosfato y detergente)
- ✓ Solución Stop o de parado (Detiene la reacción enzima-sustrato y desarrolla el color)
- ✓ Solución de Sustrato (Peroxido de hidrogeno y un cromógeno)
- ✓ Suero control positivo
- ✓ Suero control negativo
- ✓ Lavador Mecánico de Microplacas
- ✓ Tips o puntillas
- ✓ Racks
- ✓ Canoas para reactivos
- ✓ Viales de 1.5 ml
- ✓ Papel absorbente
- ✓ Recipiente de descarte de tips
- ✓ Hojas de trabajo para las muestras de suero
- ✓ 1 computadora
- ✓ 1 lector de la prueba de ELISA
- ✓ Reloj- alarma o cronómetro
- ✓ Impresora
- ✓ Papel para impresiones

5.1.3 Recursos de campo

- ✓ Una Galera abierta de 11 x 65 MT, con cortinas laterales
- ✓ Concentrado, 8 qq
- ✓ Bebederos de plato y automáticos
- ✓ Agua de bebida
- ✓ 8 Comederos tubulares
- ✓ Cortinas de manta
- ✓ Cal
- ✓ Solución desinfectante en el pediluvio, ½ litro
- ✓ Una Criadora
- ✓ 540 Pajillas plásticas transparentes
- ✓ 36 Jeringas plásticas de 3 ml
- ✓ Solución salina fisiológica 1000 ml.
- ✓ Un Marcador
- ✓ Masking tape
- ✓ Rótulos
- ✓ Cámara fotográfica
- ✓ Fichas de control de mortalidad
- ✓ Fichas de procedimientos
- ✓ Transporte o vehiculo

5.1.4 De tipo Biológico

- ✓ 500 pollitos de un día de edad
- ✓ 270 sueros en total de las aves a las edades de 1 día de edad, desde la 2ª hasta la 7ª semana de edad.
- ✓ 4 frascos de Vacuna contra la enfermedad de Gumboro (viva liofilizada de virus vivo atenuado) de 1000 dosis.
- ✓ Diluyente de vacuna
- ✓ Frasco gotero

5.1.5 Centros de referencia

- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria
- Laboratorio de INAVISA (INAVILAB)
- Referencias de INTERNET

5.2 MÉTODOS

5.2.1 Método de campo

La duración del trabajo de campo tuvo un total de 7 semanas.

Se ingresó a la galera 500 pollitas ISA BROWN de un día de edad, se separaron al azar en cuatro grupos de 125 cada uno, separados por círculos de costal de polipropileno.

La alimentación y agua se les suministró ad libitum durante el tiempo del estudio.

Los grupos se identificaron como sigue:

Grupo Control, Grupo A, B y C.

La vacuna se conservó en cadena fría antes y durante la vacunación para preservarla. La vacuna comercial que se usó fue una Vacuna a virus vivo atenuado.

El procedimiento para la preparación de la vacuna fue de la siguiente manera:

Se unió el diluyente al frasco de la vacuna, se agitó bien, luego se reconstituyó en el frasco del gotero.

La vacunación se realizó a los grupos A, B y C.

La vacuna se aplicó al ojo, colocando una gota a cada pollito de la población completa del grupo en tratamiento.

El grupo control no estuvo expuesto a la vacunación solo a las sangrías y monitoreo serológico

Para la muestra de sangre, se utilizó la punción al corazón hasta la 3a semana de edad y pasada esta edad la muestra fue obtenida por punción a la vena braquial (del ala).

El sangrado se inició a todos los grupos al primer día de edad de los pollitos, dependiendo del grupo y del tratamiento, el sangrado fue cada 15 días hasta la 7^a semana de edad.

Se tomó la muestra de sangre de 15 pollitos al azar por cada grupo, extrayendo de 0.5-1.5 ml de sangre, esta se colocó en las pajillas plásticas transparentes, dejándolas reposar al medio ambiente en la sombra, para la coagulación de la sangre y la separación del suero. Cuando el suero

estuvo separado se colocó en otra pajilla para luego conservarlo en congelación hasta que fue llevado al laboratorio.

Cada grupo de sueros estuvieron identificados adecuadamente.

5.2.2 Cronograma de los Protocolos

Síntesis de los protocolos

1 día de edad

Sangría de todos los grupos

1ª semana de edad

Vacunación con vacuna viva atenuada contra Gumboro, a los grupos A y B

2ª semana de edad

Vacunación con vacuna viva atenuada contra Gumboro, de los grupos A y C, Sangría de 15 pollos del grupo control.

3ª semana de edad.

Vacunación con vacuna viva atenuada contra Gumboro, al grupo B

Sangría de 15 pollos de los grupos A y B.

4ª semana de edad.

Vacunación con vacuna viva atenuada contra Gumboro, al grupo C

Sangría de 15 pollitos de los grupos Control, A y C.

5ª semana de edad.

Sangría de 15 pollitos del grupo B

6ª semana de edad.

Sangría de 15 pollitos de los grupos Control, A y C.

7ª semana de edad.

Sangría de 15 pollos de todos los grupos

5.2.3 Método de laboratorio

Los sueros fueron conservados en congelación hasta finalizado el trabajo de campo para luego correrles la prueba de ELISA.

Metodología para prueba de ELISA

1. Se tomaron los reactivos de ELISA del refrigerador y se dejaron llegar a temperatura ambiente.
2. Se llenó la hoja de trabajo de ELISA para las muestras de suero.
3. Se preparó la placa de dilución

4. Se agregó 300µl de la solución Buffer de dilución en todos los pozos de una placa de 96 micro pozos sin recubrimiento (Limpia).
5. Se agregó 6 µl de cada muestra de suero en los pocitos correspondientes de la placa de dilución. Se mezcló bien.
6. Se diluyó el suero de control positivo (1:50 en el buffer de dilución) para cada prueba que se trabajó en tubos de ensayo independientes.
7. Se diluyó el suero control negativo (1:50 en el buffer de dilución) por cada prueba que se trabajó en tubos de ensayo independientes.
8. Las placas de prueba que fueron necesarias se sacaron de sus bolsas selladas, se agregó 50 µl del buffer de dilución a cada uno de los pozos de las pruebas de las placas de prueba.
9. Se agregó 50 µl del suero control positivo diluido a la placa apropiada en los pozos designados para el control positivo
10. Se agregó 50 µl del suero control negativo diluido a la placa apropiada en los pozos designados para el control negativo.
11. Rápidamente se transfirió de la placa de dilución a las placas de prueba 50 µl de las muestras de suero diluidas. Se mezclaron las muestras en la placa de dilución antes de transferir el suero. Se cambiaron las puntas de pipeta entre cada fila o columna de pozos.
12. Incubar a temperatura ambiente por 30 minutos.
13. Proceso de lavado:
 - a. Previo preparación de solución de lavado
 - b. Después de los 30 min. de la incubación, se eliminó el líquido golpeando la placa en una toalla de papel.
 - c. Se uso la lavadora mecánica manual o automática, se agregó aproximadamente 30 µl de solución de lavado diluida a todos los pozos de las placas de prueba.
 - d. Se dejó que la solución de lavado absorbiera durante 3 min.
 - e. Se golpeó nuevamente la placa para desechar todos los líquidos y se repite el lavado dos veces mas.
14. Usando una pipeta multicanales, se agregan 100 µl del conjugado diluido a todos los pozos de las placas de prueba. Se conenzó a

contar los 30 min. de incubación después de agregar el conjugado en la primera placa de prueba.

15. Lavar y repetir los pasos del número (13)
16. Se agregó 100 µl de sustrato ABTS a todos los pozos de las placas de prueba. Empezó a contar los 15 minutos de incubación después de agregar el sustrato en la primera fila de la primera placa de prueba.
17. En el momento que el cronómetro sonó, se le agregó 100 µl de la solución Stop a todos los pozos de las placas.
18. Se realizó la lectura de las placas
19. Impresión de los resultados

5.2.4 Análisis estadístico

Se muestrearon 15 pollitos por grupo cada 15 días, los grupos estuvieron compuestos por 125 pollitos cada uno. El total de sueros que se obtuvo fue de: 270

A los grupos A, B y C se les realizó un total de dos vacunaciones a toda la población existente en diferentes edades de la siguiente forma:

Grupo A: 1^a y 2a semana

Grupo B: 1^a y 3a semana

Grupo C: 2^a y 4a semana

- Muestreo

La obtención de las aves a muestrear se realizó completamente al azar.

- Análisis de Resultados

Los resultados obtenidos fueron analizados por el método estadístico, Análisis de Varianza y Prueba de Tukey como prueba de comparación de medias, el cual se realizó a los tratamientos A, B Y C, evaluando los títulos y Coeficiente de Variación encontrados 15 días después de la aplicación de la primera y segunda vacuna para cada grupo, y a la 7^a semana a todos los grupos.

Los resultados se evaluaron por Análisis de varianza y al existir diferencia significativa con un 95%, se utilizó la prueba de Tukey.

Los datos de los resultados obtenidos se presentan en cuadros y graficas.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente trabajo se evaluaron tres programas de vacunación a diferentes edades contra la enfermedad de Gumboro en pollitas destinadas a postura comercial, por medio de la técnica de ELISA se evaluó la respuesta inmune, medición de los títulos de anticuerpos y su evolución en el período de duración del estudio.

Los grupos a evaluar fueron: **Grupo "Control"** Sin aplicación de vacunas, **Grupo "A"** Vacunación en 1ª y 2ª semana de edad, **Grupo "B"** Vacunación en 1ª y 3ª semana de edad y **Grupo "C"** Vacunación en 2ª y 4ª semana de edad.

(Anexo: 11.1)

Según la literatura consultada la detección de anticuerpos post vacunales se puede hacer desde los 15 días en adelante, es por eso que los muestreos serológicos por grupos se realizaron de la siguiente forma:

Grupo "Control" muestreos serológico en los días 1, 14, 28, 42 y 49 días de edad, **Grupo "A"** a los días 1, 21, 28, 42 y 49 de edad, **Grupo "B"** a los días 1, 21, 35 y 49 de edad y **Grupo "C"** muestreos serológico a los días 1, 28, 42 y 49 de edad. *(Anexo: 11.1) (Anexo: 11.2)*

El siguiente cuadro muestra los resultados de acuerdo a los programas de vacunación evaluados y el grupo control durante 7 semanas, tiempo en el cual se efectuó el estudio.

Cuadro N° 1.

Resultados de vacunación a diferentes edades, sangrado, Títulos y % CV de los grupos Control, A, B y C durante el estudio. Sg=Sangrado, Título=subrayado, Coeficiente de Variación=numero con decimales, VACUNA=vacunación efectuada.

| Edad | 1 día | 1ª Sem. (7 d) | 2ªSem (14 d) | 3ªSem. (21 d) | 4ª Sem. (28 d) | 5ª Sem. (35 d) | 6ª Sem. (42 d) | 7ª Sem. (49 d) |
|---------|-----------------------------------|------------------|-----------------------------------|--|---|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|
| Control | Sg <u>12019</u> 3.44 | | Sg <u>9293</u> 11.94 | | Sg <u>2717</u> 46.29 | | Sg <u>9435</u> 9.96 | Sg <u>10577</u> 6.31 |
| A | Sg <u>11514</u> 2.22 | VACUNA | VACUNA | Sg <u>8076</u> 34.39 | Sg 5202 38.78 | | Sg <u>11381</u> 14.27 | Sg <u>13639</u> 7.49 |
| B | Sg <u>15306</u> 2.30 | VACUNA | | Sg VACUNA <u>10919</u> 25.14 | | Sg <u>5774</u> 50.64 | | Sg <u>13126</u> 6.14 |
| C | Sg <u>13583</u> 3.67 | | VACUNA | | Sg VACUNA <u>6780</u> 25.85 | | Sg <u>12648</u> 8.26 | Sg <u>13090</u> 5.38 |

La técnica de ELISA se realizó siguiendo las indicaciones del fabricante, utilizando el kit de ELISA IBD + (Plus) de KPL.

6.1 Determinación de los títulos protectores.

Los títulos protectores en los tratamientos evaluados y el grupo control, comparados con lo especificado por el Kit de ELISA IBD + (Plus) de KPL fueron los siguientes.

Cuadro N° 2

Títulos Maternos Protectores de los cuatro grupos evaluados al primer día de edad de los pollitos.

| GRUPO | TITULO |
|---------|--------|
| CONTROL | 12019 |
| A | 11514 |
| B | 15306 |
| C | 13538 |

Todas las aves muestreadas al día de edad, demostraron estar protegidas contra la enfermedad, evidenciando títulos de Anticuerpos Maternos protectores para la progenie (11,000-15,000). (*Anexos: [11.4](#), [11.6](#), [11.10](#)*)

Cuadro N° 3

GRUPO A, Títulos de anticuerpos y Coeficiente de Variación.

| EDAD | 1 día | 21 días | 28 días | 42 días | 49 días |
|--------|-------|---------|---------|---------|---------|
| TITULO | 11514 | 8076 | 5202 | 11381 | 13639 |
| % CV | 2.22 | 34.39 | 38.78 | 14.27 | 7.49 |

En el grupo A, los títulos maternos disminuyeron desde 11514 hasta 8076 a la tercera semana después de la primera vacunación y hasta 5202 a la cuarta semana después de la segunda vacunación, se observó un título protector al día 21; 15 días después de primera dosis de vacuna pero con alto % de Coeficiente de Variación. Los títulos mínimos encontrados se manifestaron a la 4ª semana (5202), existiendo alto % de Coeficiente de Variación, lo que nos refiere a que no hubo una buena protección a esta edad (15 días post 2º dosis). (*Anexos: [11.6](#), [11.7](#)*)

La vacunación a edad muy temprana (1ª semana) indujo una disminución de los niveles de anticuerpos maternos.

Al nacer las aves están protegidas de la enfermedad por los anticuerpos maternos. Los pollitos pierden la protección a medida que crecen y se van sensibilizando dependiendo del desafío existente a la enfermedad. Las aves que son futuras ponedoras se hacen susceptibles desde los 30 días. Cuando los anticuerpos son altamente protectores no es conveniente que las aves sean vacunadas a temprana edad ya que estos anticuerpos neutralizaran el virus de la vacuna. La vacunación se debe realizar una vez que los niveles de anticuerpos sean lo suficientemente bajos pero aun protectores.

Según Comte, S; Borne. se ha demostrado que al vacunar con elevados títulos de Anticuerpos Maternos estos evita que la vacuna se replique apropiadamente y no proporcione seroconversión.

Cuadro N° 4

GRUPO B, Títulos de anticuerpos y % Coeficiente de Variación.

| EDAD | 1 día | 21 días | 35 días | 49 días |
|--------|-------|---------|---------|---------|
| TITULO | 15306 | 10919 | 5174 | 13126 |
| % CV | 2.30 | 25.14 | 50.64 | 6.14 |

Los títulos protectores para el grupo B se mantuvieron a la 3ª semana (10919) 15 días post primera vacunación, habiendo una disminución de los títulos (5174) a la 5ª semana, considerados aun como títulos mínimos protectores. A la 7ª semana a se observo un aumento de anticuerpos con bajo y conveniente coeficiente de variación. (*Anexo: [11.8](#), [11.9](#)*)

Cuadro N° 5*GRUPO C, títulos y % Coeficiente de Variación.*

| EDAD | 1 día | 28 días | 42 días | 49 días |
|--------|-------|---------|---------|---------|
| TITULO | 13583 | 6780 | 12648 | 13090 |
| % CV | 3.67 | 25.85 | 8.26 | 5.38 |

En el grupo C los títulos de anticuerpos maternos altos al día de edad disminuyeron hasta (6780) a la 4ª semana (15 días post primera vacunación) aun considerados como protectores y aumentaron a 12648 a la 6ª semana. En este caso no se vieron afectados los anticuerpos maternos, ya que estos disminuyeron hasta una edad adecuada en donde permitieron aplicar la vacunación no dejando desprotegidas las aves. (Anexos: [11.10](#), [11.11](#))

Cuadro N° 6*Grupo Control, títulos y % Coeficiente de Variación.*

| EDAD | 1 día | 14 días | 28 días | 42 días | 49 días |
|--------|-------|---------|---------|---------|---------|
| TITULO | 12019 | 9293 | 2717 | 9435 | 10577 |
| % CV | 3.44 | 11.94 | 46.29 | 9.96 | 6.31 |

En el cuadro N° 6 se muestran los valores de los títulos de anticuerpos obtenidos y el Coeficiente de Variación, en donde el grupo control obtuvo una disminución de anticuerpos protectores hasta los 28 días de edad de las aves (2717) con un Coeficiente de Variación mayor que 30% (46.29).

Al día de edad los títulos de anticuerpos maternos se consideran elevados indicando una excelente protección contra VEBF y un bajo Coeficiente de Variación, disminuyendo a los 14 días, y estando por debajo de los títulos protectores a los 28 días con un amplio Coeficiente de Variación. Se evidencio que hubo un aumento en los títulos de anticuerpos a los 42 días aun no siendo vacunado este grupo. Estos resultados nos pueden referir que el grupo Control estuvo expuesto al virus vacunal de los grupos tratados. (Anexos: [11.4](#), [11.5](#))

Observando el grupo control, la disminución de los anticuerpos maternos, hasta la 2ª semanas son protectores para la progenie con un bajo Coeficiente de Variación, no así una significativa disminución a la 4ª semanas, lo cual sugiere que a partir de la 2ª semana de edad de las aves se podría iniciar un programa de vacunación.

6.2 Coeficientes de Variación

Es importante evaluar los títulos y el Coeficiente de Variación obtenidos. Debido a que la susceptibilidad de campo para la enfermedad de Gumboro en su forma clínica de acuerdo a la literatura consultada inicia y es mayor a los 21 días de edad (3ª Semana).

Cuadro N° 7

Coeficientes de Variación obtenidos 15 días después de 1ª y 2ª vacunación en cada grupo y al finalizar el estudio a la 7ª semana.

| Grupo | 1º día | 2ª Semana | 3ª Semana | 4ª Semana | 5ª Semana | 6ª Semana | 7ª Semana |
|---------|--------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Control | 3.4 | 11.94 | | 46.29 | | 9.96 | 6.31 |
| A | 2.22 | | 34.39 | 38.78 | | 14.27 | 7.49 |
| B | 2.30 | | 25.14 | | 50.64 | | 6.14 |
| C | 3.67 | | | 25.85 | | 8.26 | 5.83 |

En el cuadro se representan los Coeficientes de Variación obtenidos; como se cita en la Bibliografía consultada un coeficiente de variación menores que 30%, nos refleja una adecuada vacunación y nos indica la dispersión del valor individual que contempla la media del título. Es ideal que los títulos sean altos y que posean un coeficiente de variación bajo, lo cual significa que se ha alcanzado un nivel de protección adecuado y una respuesta uniforme.

En este caso el Coeficiente de Variación obtenido hasta la 7ª semana refleja una buena protección en los grupos vacunados. (Anexos: [11.5](#), [11.7](#), [11.9](#), [11.11](#))

6.3 Análisis estadístico

Cuadro N° 8

Comparación de las medias de los títulos, por Prueba de Tukey, 15 días después de primera dosis de vacuna.

| TRATAMIENTO | EDAD APLICADA | SANGRADO | MEDIA DE LOS TITULOS |
|-------------|---------------|----------|----------------------|
| A | 1º Semana | 21 días | 8075 |
| B | 1º Semana | 21 días | 10919 |
| C | 2º Semana | 28 días | 6779 |

Según el análisis estadístico se detectó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los grupos, luego se procedió a realizar la prueba de Tukey, donde el grupo B obtuvo un aumento en la concentración de anticuerpos comparado con los grupos A y C, 15 días después de la primera dosis de vacuna. La diferencia en el grupo B se observa desde el primer día de edad con títulos elevados de anticuerpos comparado con los otros grupos. Los títulos en el grupo A y C fueron bajos comparados con el grupo B aún considerándose como protectores. (Anexos: [11.4](#), [11.6](#), [11.8](#), [11.10](#))

Cuadro N° 9

Comparación de las medias de los títulos, por Prueba de Tukey, 15 días post segunda vacunación.

| TRATAMIENTO | EDAD APLICADA | SANGRADO | MEDIA DE LOS TITULOS |
|-------------|---------------|----------|----------------------|
| A | 2ª Semana | 28 días | 5201 |
| B | 3ª Semana | 35 días | 5774 |
| C | 4ª Semana | 42 días | 12648 |

El análisis estadístico nos revela diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en el grupo C. Mostrando un aumento en la concentración de anticuerpos comparado con los grupos A y B 15 días después de segunda dosis de vacuna. Indicando en este grupo una buena respuesta inmune con una considerable elevación de los títulos. (Anexos: [11.4](#), [11.6](#), [11.8](#), [11.10](#))

Cuadro N° 10

Comparación de las medias de los títulos, por Prueba de Tukey, a la 7ª semana.

| TRATAMIENTO | SANGRADO | MEDIA DE LOS TITULOS |
|-------------|----------|----------------------|
| CONTROL | 49 días | 10530 |
| A | 49 días | 13637 |
| B | 49 días | 13126 |
| C | 49 días | 13089 |

Según el análisis estadístico existe diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en el grupo Control, no así en los grupos A, B y C los cuales mostraron tener una concentración de anticuerpos altos expresado en los títulos a la 7ª semana.

(Anexos: [11.4](#), [11.6](#), [11.8](#), [11.10](#))

VII. CONCLUSIONES

1. La vacunación a la 2^a y 4^a semana de edad de las aves, se obtuvo mejores resultados en los títulos de anticuerpos y coeficiente de variación.
2. De los programas de vacunación evaluados, el Grupo "B" (Primera y tercera semana) también demostró tener buenos resultados en los títulos y coeficiente de variación obtenidos.
3. No se encontró diferencia significativa en los grupos A, B, y C en la evaluación de los títulos y Coeficiente de Variación a la 7^a semana.
4. No se puede establecer un programa de vacunación universal, ya que esto dependerá de las condiciones específicas para cada explotación.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Realizar perfiles serológicos específicos para cada explotación para conocer los niveles de anticuerpos en los lotes y poder establecer un programa de vacunación adecuado para cada condición en particular.
2. Se recomienda la vacunación a la segunda y cuarta semana de edad cuando se conocen los títulos maternos; y si estos son altos en la progenie (11,000-15,000), los cuales disminuyen entre la 2^a-3^a semana.
3. Para que un programa de vacunación sea exitoso se deben de tomar en cuenta una buena Bioseguridad, manejo de las vacunas, técnica de vacunación y personal entrenado encargado de la vacunación.
4. Se recomienda en nuevos estudios, hacer un perfil serológico tomando los muestreos sanguíneos cada semana.

IX. RESUMEN

Se utilizaron 500 pollitas para postura, línea genética ISA BROWN procedentes de una incubadora comercial, las cuales fueron distribuidas uniformemente en cuatro grupos (Control, A, B, C) de 125 pollitas cada uno.

Los grupos a evaluar fueron: **Grupo "Control"** Sin aplicación de vacunas, **Grupo "A"** Vacunación en 1ª y 2ª semana de edad, **Grupo "B"** Vacunación en 1ª y 3ª semana de edad y **Grupo "C"** Vacunación en 2ª y 4ª semana de edad.

Los muestreos serológicos por grupos se realizaron de la siguiente forma: **Grupo "Control"** muestreos serológico en los días 1, 14, 28, 42 y 49 días de edad, **Grupo "A"** a los días 1, 21, 28, 42 y 49 de edad, **Grupo "B"** a los días 1, 21, 35 y 49 de edad y **Grupo "C"** muestreos serológico a los días 1, 28, 42 y 49 de edad.

Se utilizó la técnica de ELISA, kit IBD + (Plus) para la medición de anticuerpos, los resultados obtenidos se analizaron por medio del diseño estadístico Análisis de Varianza y prueba de Tukey encontrando los siguientes resultados.

Todas las aves muestreadas al día de edad, demostraron estar protegidas contra la enfermedad, evidenciando títulos de Anticuerpos Maternos protectores para la progenie. El Coeficiente de Variación obtenido hasta la 7ª semana reflejó una buena protección en los individuos confirmándose esto también con los niveles de títulos altos.

Los resultados obtenidos reflejan que vacunando a la 2ª y 4ª semana de edad, se obtienen mejores resultados.

De los programas de vacunación evaluados, el Grupo "B" (Primera y tercera semana) también demostró tener buenos resultados.

Según el análisis estadístico, existe diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en el grupo control, no así en los grupos A, B y C los cuales mostraron una concentración de anticuerpos altos expresado en los títulos a la 7ª semana.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Actualización en agentes virales inmunosupresores. s.f. (en línea). Consultado 06 jun. Disponible en www.engormix.com/nuevo/prueba/colaboraciones.asp
2. Agrobiotek laboratorios. Monitoreo serológico; una Herramienta para optimizar la productividad de la industria Avícola. Humberto Cosenza. Tegucigalpa HD., RPL, 9 p.
3. Banda, A. 2002. X Seminario Internacional de Patología y Producción Aviar: Gumboro métodos de diagnóstico e Interpretación de resultados. (CD). Athens Georgia, University of Georgia. 1 disco compacto, 8 mm.
4. Calnek, WB. 1995. Enfermedades de las aves. Trad. J Merigo Jane. México D.F. Manual Moderno. p. 797-811
5. Chairman S, ED. 1998. A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. 4 ed. United States of America. The American Association of pathologists. 311p.
6. Congreso Latinoamericano de Avicultura. (16, 1999, PE) Control y prevención de la enfermedad infecciosa de la bursa. Ed. Por Y.M. Saif. Lima Perú. ALA. p 37-39.
7. _____. (16, 1999, PE). 1999. Biotecnología de la infección Bursal. Ed. Por Daría J. Jackwood. Lima Perú, ALA. p 30-33.
8. Cosenza, H. 1999. Nuevo "kit" de ELISA- KPL+. Detecta anti cuerpos específicos para el virus de Gumboro con mas Sensibilidad y excelente correlación con neutralización viral. Tegucigalpa Hod., PPL. 17 p.

9. Charlton, BR. 2000. Avian disease manual. 5 ed. United States of America. The American Association of pathologists. 243 p.
10. Comte, S; Borne, PM. 2001. Monitoreando la vacunación mediante análisis de ELISA. World Poultry. Oct.: 22-25.
11. De los Rios, G. 1994. Bases de inmunología avícola y aplicaciones prácticas. El Informador avícola (GT) no 66: 13-18.
12. Hy Lyne. 2002. Guía de manejo comercial W98 Hy-Lyne 2002-2004. (en línea) Iowa. US. Consultado 10 jun. 2004. Disponible en [www.criaves.com.sv/archivos/Guía de manejo w98.pdf](http://www.criaves.com.sv/archivos/Guía%20de%20manejo%20w98.pdf) –
13. Hipra. 2004. Diferentes tipos de vacunas contra la enfermedad de Gumboro. (en línea). Consultada el 06 jun. Disponible en www.hipra.com
14. Jordan, FTW; PATTISON, M. 1998. Enfermedades de las aves. 3 ed. México D.F; Manual Moderno. 522 p.
15. Jackwood, D. 2002. X Seminario Internacional de Patología y Producción Aviar: Enfermedad Infecciosa de la Bolsa Situación mundial. (CD). Athens Georgia, University of Georgia. 1 disco Compacto 8 mm.
16. Kouwenhoven, B. 2002. X Seminario Internacional de Patología y producción Aviar: Enfermedad de Gumboro punto de vista Europeo. (CD). Athens Georgia, University of Georgia. 1 Disco Compacto, 8 mm
17. Kreager, K. 2002. X Seminario Internacional de Patología y Producción Aviar: Manejo y control de Enfermedades en Ponedoras (CD). Athens Georgia, University of Georgia. 1 Disco Compacto 8 mm.

18. Lohmann Animal Health. s. f. Infectious Bursal Disease (Gumboro): Poultry vaccine guide. (en línea) Consultado 01 jun. 2004. Disponible en [Http://www.lah.de/seinten/pug/pdf/ibd-accine.pdf](http://www.lah.de/seinten/pug/pdf/ibd-accine.pdf)
19. Mc Nulty, S. 1997. Birnavirus EM-Queens University. Inglaterra Camelia Buchen Osmond. p 1-2.
20. Loon, MWAA; VAN LOON. 2001. Una experiencia de campo en una vacunación contra gumboro con diferentes razas de Ponedoras. World Poultry Oct.: 30-32.
21. Pereira, SRFG. 1998 Western blot detedtion of infecctious bursal disease virus infecction. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. p. 1-6.
22. Profloks Plus. 1999 Detección de anticuerpos específicos para el Virus causante de la enfermedad infecciosa de la bursa (Gumboro). Trad. Por Humberto Cosenza. Tegucigalpa, HD.22 p.
23. Richter, F. 2003. El laboratorio de diagnostico en la avicultura. El informador avícola. 19(8): p 20-22.
24. Salem, M. 2002. X Seminario Internacional de Patología y Producción Aviar: Evaluación de la protección contra Enfermedad de Gumboro en parvadas de pollo mediante el desafío. (CD). Athens Georgia, University of Georgia. 1 disco compacto, 8 mm.
25. Tizard, IR. 1998. Inmunología veterinaria. Trad. Por Martha Elena Araiza. 5 ed. Mexico D.F; Interamericana. p 238-241.
26. Villegas, P. 1998. Avian virus disease: (AVMO 8050). Georgia, US. University of Georgia. p 60-70.

27. _____. P. 2001. Programas de vacunación en reproductoras y ponedoras comerciales. (en línea). Georgia US. American Veterinaria. Consultado 01 mayo 2004. Disponible en <http://www.e-campo.com/media/news/nl/altavicultura45.htm>

28. _____. 2002. X Seminario Internacional de Patología y Producción Aviar: Calendarios de vacunación en reproductoras Pesada y controles serológicos para evaluar la respuesta Postvacunal. (CD). Athens Georgia, University of Georgia. 1 Disco Compacto 8 mm.

29. Vacuna de IBD (2512). Composición química de 4 proteínas virales VP1, VP2, VP3, y 3 serotipos del virus de Gumboro con sus subserotipos. (en línea) Consultado el 16 de mayo 2004 Disponible en www.visionveterinaria.com/prion/Gumboro.html

XI. ANEXOS

11.1 Boleta N° 1: Identificación de los procedimientos de vacunación y sangrados en las aves en el campo. Romero y Cols. Guatemala, Abril-Junio 2004.

Fecha: _____

Nombre del Grupo: _____

Procedimiento: SANGRADO _____

VACUNACION _____

Total: SANGRADOS _____

VACUNADOS _____

Muertos: _____

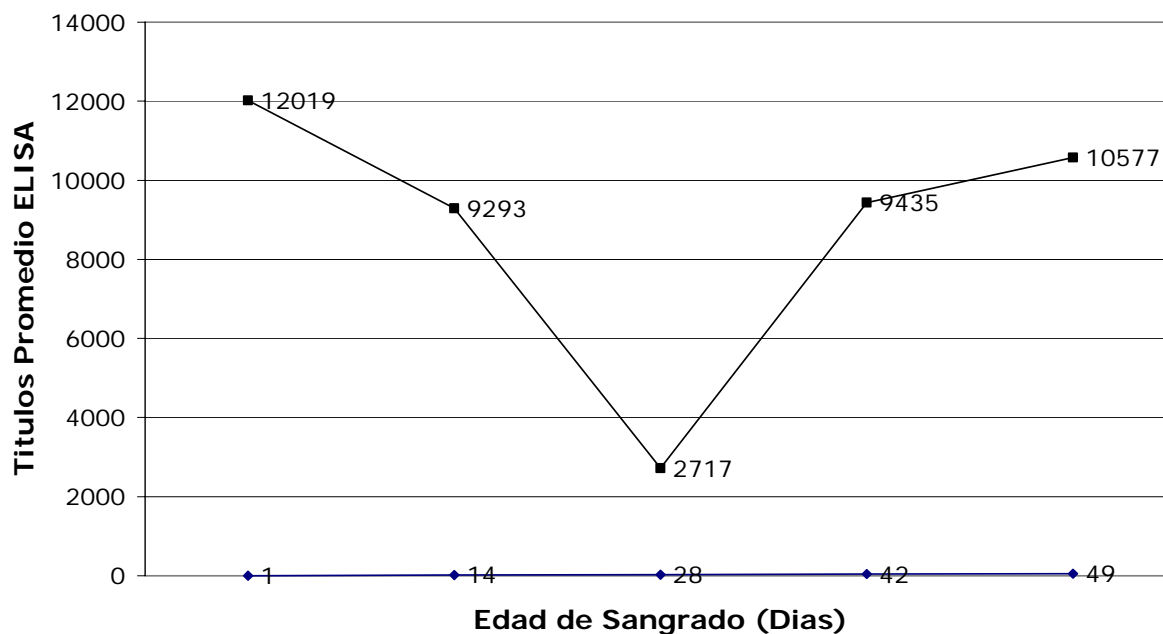
Total de aves a la fecha: _____

Fecha de envío de los sueros al Laboratorio: _____

[Regresar](#)

11.4 Gráfica N° 1: Gráfico de títulos de Anticuerpos, Grupo "Control". Romero y Cols. Guatemala, Abril-Junio 2004.

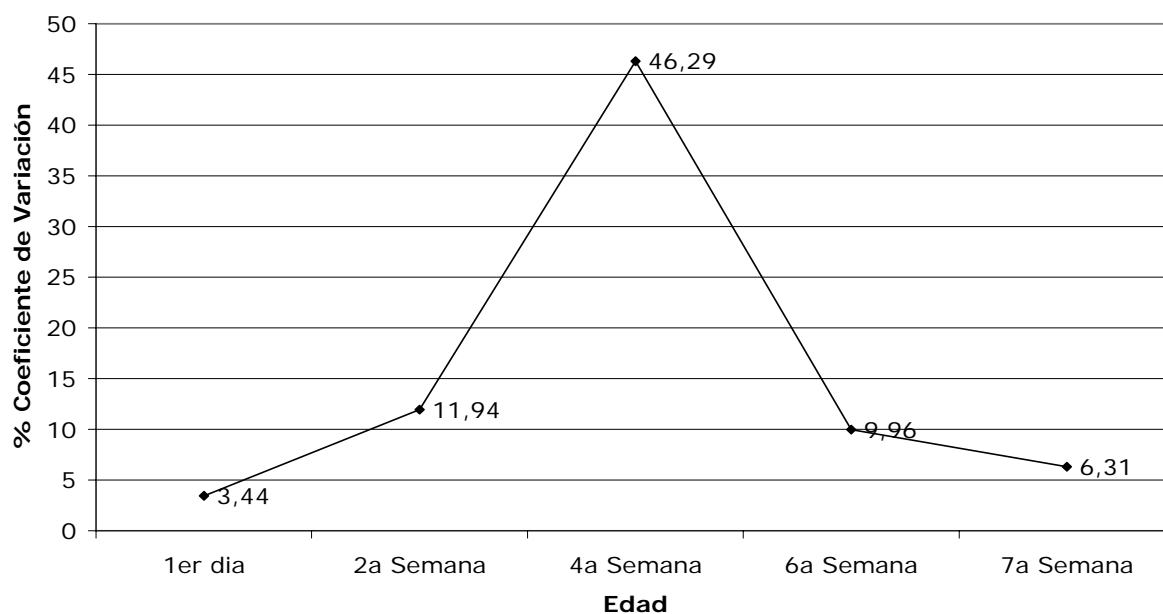
Grupo Control, Historial



[Regresar](#)

11.5 Gráfica N° 2: Gráfico de % Coeficiente de Variación (%CV) Grupo "Control". Romero y Cols. Guatemala, Abril-Junio 2004.

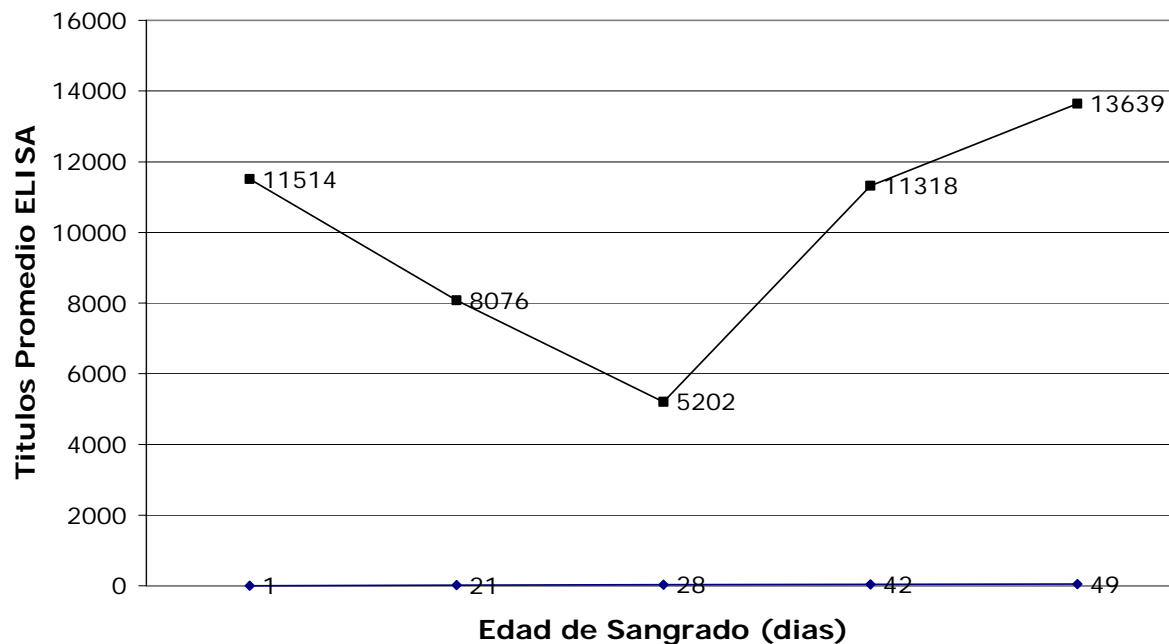
Grupo Control



[Regresar](#)

11.6 Grafica N° 3: Grafico de Títulos de Anticuerpos, Grupo "A". Romero y Cols. Guatemala, Abril-Junio 2004.

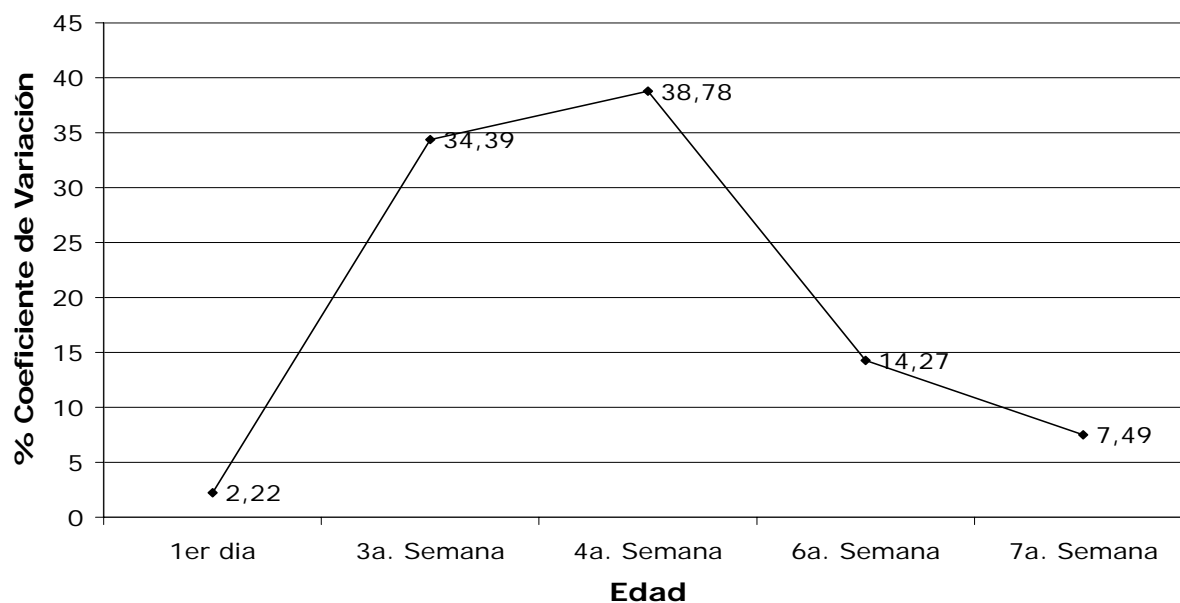
Grupo A, Historial



[Regresar](#)

11.7 Grafica N° 4: Gráfico de % Coeficiente de Variación (%CV) Grupo "A". Romero y Cols. Guatemala, Abril-Junio 2004.

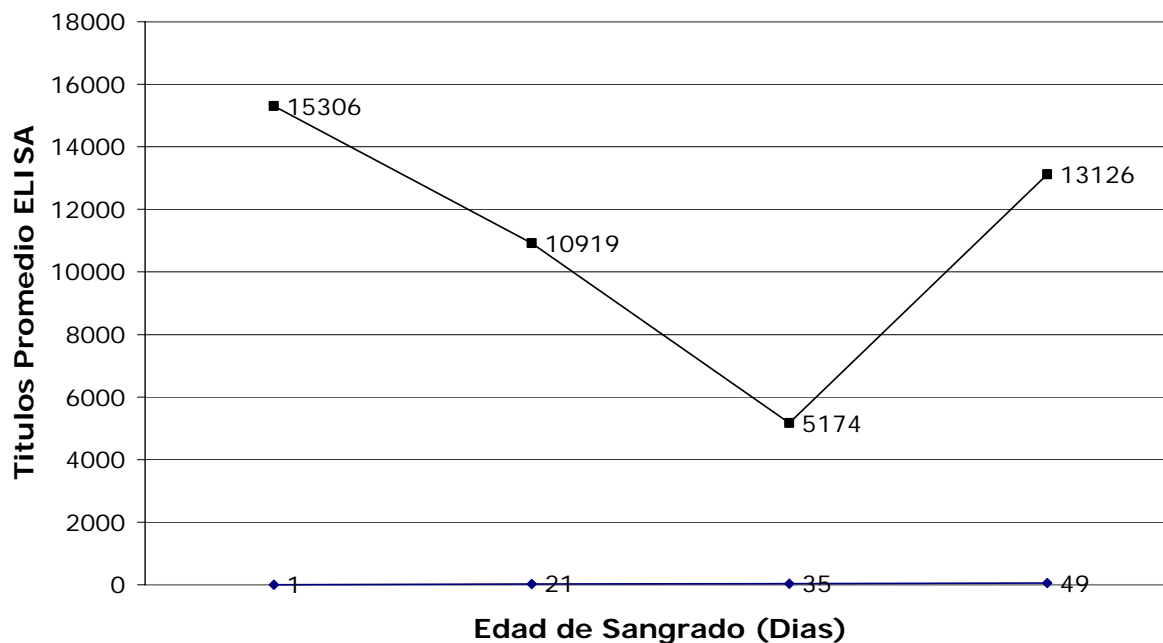
Grupo A



[Regresar](#)

11.8 Grafica N° 5: Grafico de Títulos de Anticuerpos, Grupo "B". Romero y Cols. Guatemala, Abril-Junio 2004.

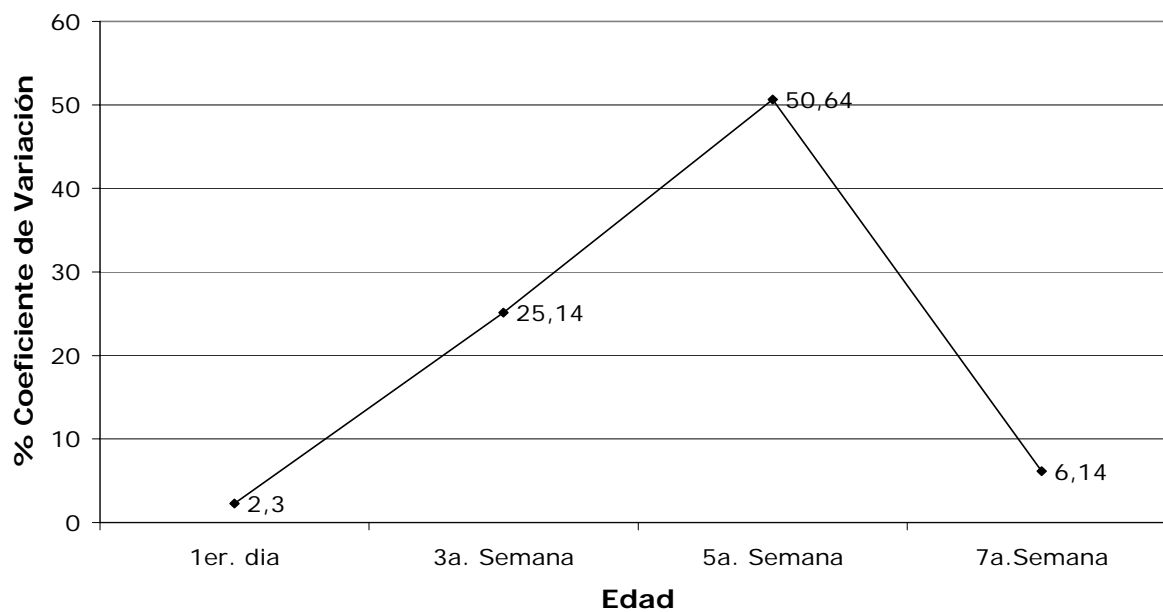
GRUPO B, HISTORIAL



[Regresar](#)

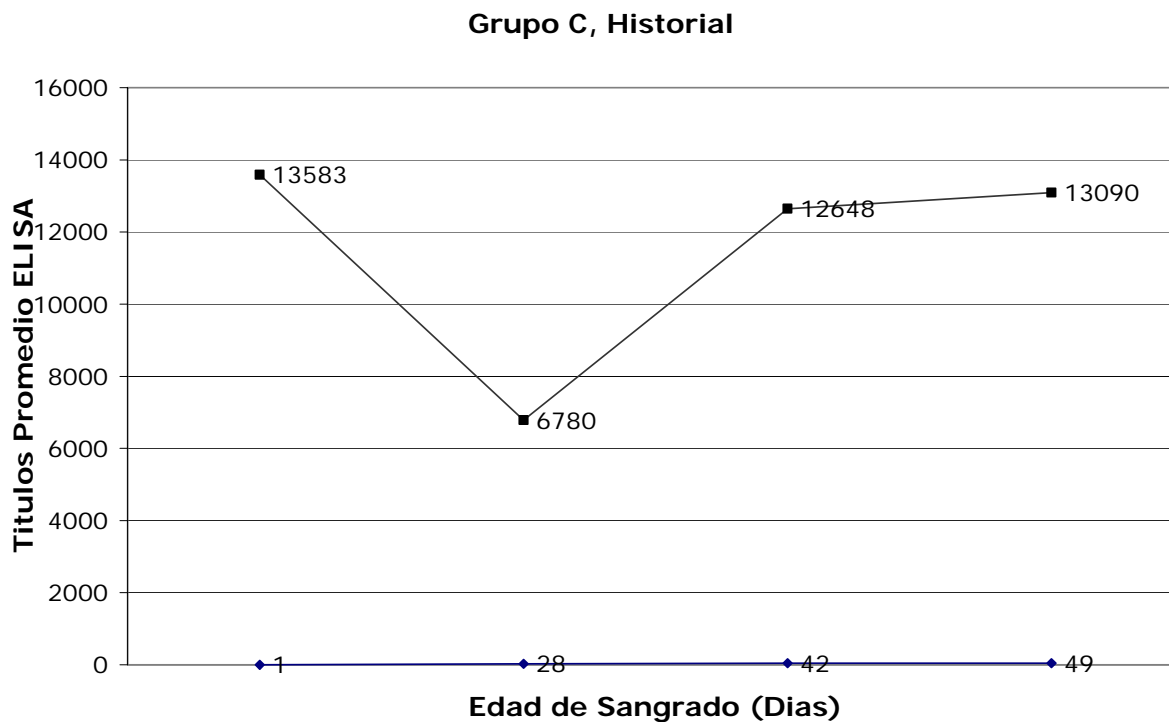
11.9 Grafica N° 6: Gráfico de % Coeficiente de Variación (%CV) Grupo "B". Romero y Cols. Guatemala, Abril-Junio 2004.

Grupo B



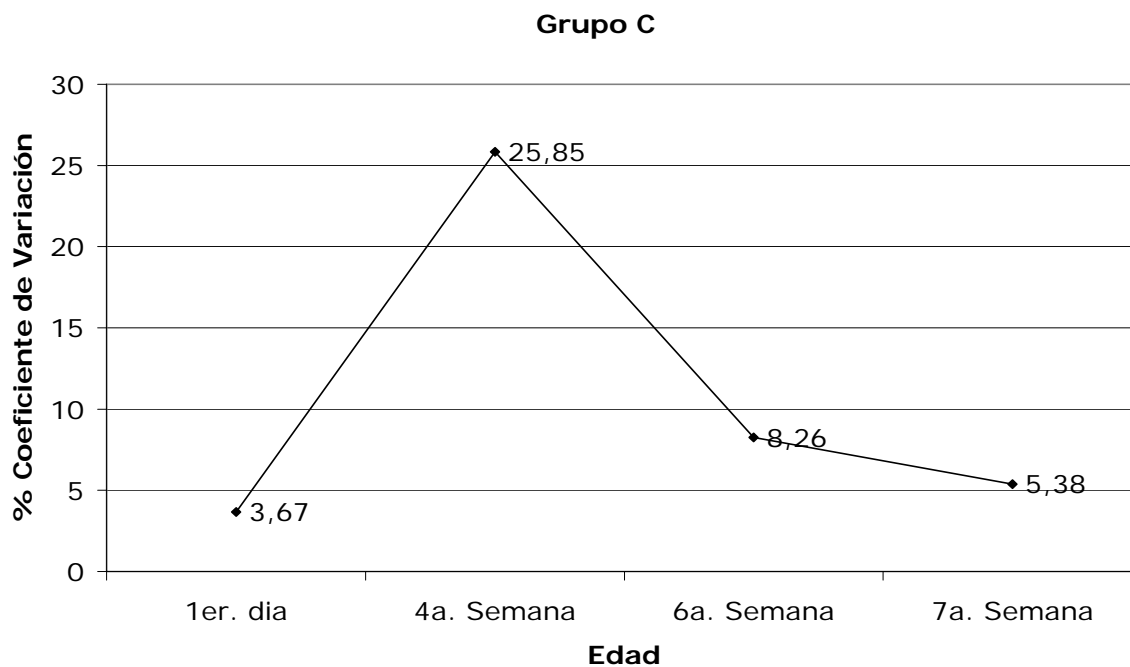
[Regresar](#)

11.10 Grafica N° 7: Grafico de Títulos de Anticuerpos, Grupo "C". Romero y Cols. Guatemala, Abril-Junio 2004.



[Regresar](#)

11.11 Grafica N° 8: Gráfico de % Coeficiente de Variación (%CV) Grupo "C". Romero y Cols.



[Regresar](#)