

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



· AISLAMIENTO DEL VIRUS DE LA ENFERMEDAD DE
GUMBORO EN PARVADAS DE POLLO DE ENGORDA CON
ENFERMEDAD RESPIRATORIA CRONICA COMPLICADA
TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

P.M.V.Z. JOSÉ DE JESUS MURILLO MAGOS
ASESOR

M.V.Z. HUGO BERNALES CASILLAS

Julio 1991

REPORTE DE ANOMALIAS

CUCBA

A LA TESIS:

LCUCBA01423

Autor:

Murillo Magos Jose de Jesus

Tipo de Anomalia:

Errores de Origen: Sin Indice de contenido

AGRADECIMIENTOS:

A DIOS por llevarme de su mano en los
logros de mi vida.

A MIS PADRES por mi tiempo y mi espacio.

A MI ESPOSA por su apoyo y desvelos -
desinteresados.

A MIS HIJOS por su cariño puro.

A MIS HERMANOS Cristina, Julio, Graciela,
Carmen, Beatriz, Salvador,
y Martha Alicia.

A MIS COMPAÑEROS Hugo, Fermín, Oscar, Lourdes,
Luz, Luisa, Margarita, Isidro,
Fausto, Ernestina, Roberto, -
Alonso, Salvador, Danna, Jaime,
Humberto, José María y Mario.

A TI PEDRO MORAN que supiste ser Amigo y Maestro.

POR TODO ELLO

" DOY GRACIAS A DIOS "

INTRODUCCION

INTRODUCCION:

La infección de la Bolsa de Fabricio es una enfermedad Linfocidal Aguda altamente infecciosa de pollos jóvenes sexualmente inmaduros que afecta a la Bolsa de Fabricio, a su tejido Linfoide, produciendo necrosis de elementos linfoides y destruyendo linfocitos indiferenciados. - Esta enfermedad se encuentra diseminada en todo el mundo. (7,18,19,29).

Se caracteriza por picoteo en la zona cloacal, postración, deshidratación. El efecto más nocivo de esta enfermedad es la inmunosupresión sufrida en pollos afectados; a simple vista puede observarse edema e inflamación de la Bursa Cloacal. (18,29).

Esta enfermedad fue observada por primera vez en 1957 (13) y reportada por Cosgrove en 1962 en granjas avícolas cercanas a la población de Gumboro en el Estado Norteamericano de Delaware, por lo que pronto se le conoció con el nombre de enfermedad de Gumboro. (2,4,19).

Inicialmente hubo una confusión en cuanto a la etiología del Síndrome de Nefrosis Aviar (así conocido inicialmente) Winterfiel y Hitchner (1962) describen un aislamiento del virus (gris) de la infección de Bronquitis obtenido del riñón en un caso de campo de nefrosis aviar. Un pequeño porcentaje de los pollos experimentalmente inoculados murieron y exhibieron una nefrosis no diferente a las vistas en el Síndrome que se había reportado inicialmente. A causa de esta similitud entre las lesiones del riñón inducidas por el virus gris y aquellas vistas en nefrosis aviar descritas por Cosgrove (1962) y se pensó que el virus gris era el agente causal. Sin embargo posteriores estudios revelaron que aves inmunes al virus gris podrían ser todavía infectadas con el agente de la infección de la enfermedad de la BURSA y podrían desarrollar los cambios específicos de esta enfermedad. En estudios subsecuentes con pollos afectados con la enfermedad BURSAL, Winterfield y colaboradores (1962) tuvieron éxito, al aislar un agente en embriones de pollo.

La mortalidad de la muestra fue irregular y el agente fue difícil de mantener en pasajes seriados. Al aislamiento se le llamó como agente Bursal infeccioso y se le presentó como la verdadera causa de la enfermedad infecciosa de la Bursa; el virus gris fue identificado como un aislamiento del virus de la infección de Bronquitis con tendencias nefrotóxicas. Hitchner (1970) subsecuentemente propuso el término enfermedad infecciosa de la Bursa como el nombre de la enfermedad causante específica de lesiones patognomónicas de la Bursa Cloacal. (10).

En México Correa aisló un agente infeccioso procedente de aves de granjas situadas en Atzacotzalco D.F. con características similares a las del virus de la infección de la Bolsa de Fabricio, en 1965 y en 1969 reprodujo la enfermedad en aves susceptibles. En 1972 Lucio y Col. confirmaron la presencia de la enfermedad en México al identificar anticuerpos contra el virus. Esta encuesta demostró que el 90% de las parvadas poseían anticuerpos neutralizantes contra el virus de la infección de la Bolsa de Fabricio. (4,13,19).

El virus de la enfermedad de la Bolsa de Fabricio (VEBF) es un virus icosaédrico, que carece de envoltura con un diámetro de 55 a 60 nanómetros. El genoma RNA de este virus es de doble cadena y segmentado (2 segmentos) (1,10,24). Anteriormente se le había clasificado como un reovirus (4) debido a que los virus de la familia reoviridae tienen doble cadena RNA y genomas segmentados, sin embargo, tienen 10 a 11 segmentos por ello Dobos y Col. propusieron que el virus de la enfermedad de la Bolsa de Fabricio y virus similares estén incluidos en una nueva familia llamada Birna Virus (Birnaviridae) con el prefijo Bi por la doble cadena segmentada del genoma y RNA por el tipo de ácido nucleico. La cápside de este virion tiene 4 proteínas estructurales que forman 32 capsómeros. No ha determinado cuál de esas proteínas puede inducir protección a la enfermedad. (1,10).

Se han descrito dos serotipos del virus de la enfermedad de Gumbo ro. El serotipo 1 afecta a los pollos (Luckert y Cepa D 78) y el serotipo 2 que se encuentra naturalmente en pavos y que no ha demostrado afectar a otras aves (cepa Missouri o Mo). (1,7,13,10).

Aunque los serotipos están bien determinados en cuanto a la especie que afectan en Inglaterra se encontró que, al momento del sacrificio, de 46 parvadas muestreadas, 13 tenían anticuerpos contra el serotipo 1 y 38 contra el 2. Se ha sugerido a partir de ello que la presencia de anticuerpos contra el serotipo 2 podría interferir con la vacunación con serotipo 1 (3) .

Las variantes son probablemente el resultado de la selección natural ejercida por presión de anticuerpos o por mutaciones ocurridas en el campo (14) .

El VEBF es un virus bastante resistente al medio ambiente y a los desinfectantes. Resiste al ether y al cloroformo. Así mismo permanece viable en un PH_2 . Es sensible al Yodo y al formol. (10,13) .

El virus penetra por vía oral y sufre una primera multiplicación en macrófagos y células reticulares del proventrículo e intestino delgado de ahí es transportado al hígado donde se multiplica parcialmente y pasa a otros órganos, por vía sanguínea, como son el Bazo, Timo y Riñón donde también se va a producir una multiplicación. (13) .

La Bolsa de Fabricio, que es un órgano linfoide primario, juega un papel importante en la inmunidad de las aves ya que ahí es el lugar donde maduran los linfocitos desde los 18 días de incubación del pollo hasta las 4 semanas de edad (13) . La maduración de las células B en la Bolsa es estimulada por una hormona denominada Bursopoyetina. (21) .

Una vez que en este órgano maduran o son "entrenados" los linfocitos van a poder tener la capacidad de poder crear anticuerpos y tener un papel activo en la respuesta inmune de las aves. (13) .

El VEBF infecta los linfocitos B inmaduros y se replica en ellos de tal manera que una de las lesiones más prominentes que presentan los pollos susceptibles es la extensa necrosis de la Bolsa de Fabricio. Los cambios patológicos de la Bursa son irreversibles. (25, 28) .

Por ello si éste órgano sufre alteraciones en los primeros días - de edad, que es cuando las células indiferenciadas van a llevar a cabo su entrenamiento, se produce el efecto de inmunosupresión (10,21,25). La infección también produce una disminución en el número de linfocitos presentes en la glándula de Harder que tienen un papel determinante en el desarrollo de la inmunidad local en la mucosa respiratoria. - Por lo tanto la enfermedad hace que las aves sean más susceptibles a infecciones respiratorias producidas por bacterias o virus. (24,25).

El VEBF puede también deprimir el sistema inmune celular. Existen estudios de laboratorio que demuestran que los linfocitos T procedentes de pollos durante las primeras fases de la infección responden de una manera muy deficiente a los mitógenos tales como la fitohemoaglutinina y la concavalina A. Se considera que una respuesta mitógena vigorosa constituye una buena manera de medir una correcta unidad celular del tipo T. Otros estudios han demostrado que algunas vacunas como Mareck cuya protección se basa en la estimulación del sistema inmune celular no fueron efectivas cuando se vacunaron aves que presentaban inmunodepresión producida por una exposición al virus de la enfermedad - de Gumboro (28, 30).

Las descripciones clásicas de la enfermedad mencionan 2 tipos de presentación: Clínica cuando la infección ocurre entre las 3 y 6 semanas de edad y sub-clínica cuando ocurre antes de las 3 semanas. Esta última produce inmunosupresión más severa. (24).

De gran importancia, en esta enfermedad, es la inmunidad pasiva - que consiste en la transmisión de altos niveles de anticuerpos a la progenie de tal forma que el pollito quede protegido el mayor tiempo posible. (14,15).

La vida media de estos anticuerpos maternos es de 3.5 días.

Toda inmunidad materna va a depender de la vacunación efectuada a la reproductora, cuando es solo de virus vivo va a ser mas baja que -- cuando se ha usado vacuna emulsionada virus inactivado. A fecha reciente se ha reportado que el título de anticuerpos maternos va a bajar a la mitad a los 3 o 5 días de nacido el pollo (1, 10, 13).

La inmunosupresión es el efecto más importante de la infección. - Esta inmunosupresión resulta en una respuesta pobre a las vacunaciones y en una mayor susceptibilidad a las infecciones de campo. Varias enfermedades han sido asociadas a exposiciones con el virus de la enfermedad de Gumboro, entre ellas hepatitis con cuerpos de inclusión, dermatitis gangrenosa, enfermedad de Mareck, enfermedad respiratoria crónica, coccidiosis y recientemente anemia infecciosa aviar. (25).

A pesar de los avances en el desarrollo de las vacunas y la determinación de anticuerpos, la incidencia del VEBF y los problemas asociados con esta enfermedad todavía ocurren. (30). Las infecciones subolíticas inmunodepresivas aparecen con aumentada frecuencia y severidad a pesar de una mejorada sanidad e higiene y de repetida vacunación contra el VEBF.

Esto puede deberse las variantes de VEBF. (5). Desde 1985 a la fecha varios estudios en E.U.A. han revelado la presencia de cepas variantes del VEBF (1,24,30). En ciertas áreas geográficas de los E.U. A. y en particular en la Península de Marva, parvadas de pollo de engorda sucumbían por el virus de la enfermedad de Gumboro a pesar de -- mostrar niveles aparentemente buenos de anticuerpos circulantes contra el virus de la enfermedad de Gumboro, Estas parvadas por lo general no estaban afectadas clínicamente pero mostraban atrofia temprana de la Bolsa de Fabricio antes de las 2 semanas de edad, típicamente estas -- parvadas tenían bajo rendimiento presentado por un pobre aumento de peso, conversión alimenticia alta, mortalidad y deceso elevado.

La mortalidad se debía generalmente a complicaciones con enfermedades respiratorias pero también se observaba frecuentemente dermatitis gangrenosa y sinusitis (2) debido a la inmunosupresión (5).

Estas cepas variantes tienen una relación autogénica baja con el serotipo estandar del VEBF y una relación antigénica mayor entre algunas de ellas aunque en realidad son subtipos del serotipo 1 . Las principales cepas variantes descritas son la MD (SAIF) las ADE y G (ROSEMBERGER) y las V. 28 y 3212 (1).

Los investigadores en 1987 dividieron el serotipo 1 del virus de la enfermedad de Gumboro en 6 subtipos utilizando pruebas de neutralización cruzada de virus. (un subtipo es una cepa que puede diferenciarse de otros dentro del mismo serotipo por medio de métodos serológicos). Los primeros 5 subtipos están relacionados estrechamente y la inmunización con vacunas convencionales proporcionan por lo menos el 80% de protección en contra de ellos por esto son llamados subtipos estandar. Los virus del sexto subtipo son llamados variantes. (5).

Los subtipos variantes del serotipo 1 están relacionados del 20 al 70% a los virus del subtipo 1 estandar. Por lo tanto las vacunas que contienen los subtipos estandar no pueden proporcionar más de un 20 o 70% de protección contra la variante. Estas variantes presentan una diferencia antigénica mayor de los virus estandar usando una ecuación a la cual previamente se haya acordado. Si los virus están relacionados en menos de un 10% son colocados en un serotipo diferente. (5).

Estas cepas producen pocos o ningún signo clínico en aves de 3 a 6 semanas de edad; hay atrofia en la bolsa o sin edema o hemorragia (14). Las parvadas presentan inmunodepresión responden de manera deficiente a las vacunaciones de rutina y desarrollan un incremento en la susceptibilidad a agentes oportunistas (28). En general estas granjas obtienen menores rendimientos y tienen un porcentaje mayor de descartes en la planta de procesamiento. A la edad de mercado es común que las parvadas de pollo de engorda afectadas tengan niveles altos de anticuerpos contra la enfermedad. (25). Las cepas variantes del VEBF son quizá el resultado de la selección natural ejercida por presión de anticuerpos o por mutaciones ocurridas en el campo (14).

La existencia de cepas variantes no es una sorpresa, de hecho, situaciones similares han ocurrido en el caso de la Bronquitis infecciosa, Influenza Aviar y la Enfermedad de Mareck entre otras. (25). Y en forma reciente el Síndrome de cabeza hinchada. (24).

En Europa y más concretamente en Bélgica, los países bajos y algunas regiones de Alemania Federal, el Norte de Francia e Inglaterra; se ha reportado desde 1986 una presentación extremadamente virulenta de la enfermedad.

Los brotes han demostrado que la protección pasiva contenida por los anticuerpos derivados de las reproductoras vacunadas con vacunas -- inactivadas ha sido insuficientes para proteger a los pollos de engorda durante su vida económica.

El virus aislado ha demostrado ser muy patógeno, 90 a 100% de las aves libres de patógenos específicos SPF (Specific Patogen Free) infectadas experimentalmente mueren, en comparación el 40% descrito para la cepa del virus Fanagher 52/70. Este último es el virus prototipo del serotipo clásico y hasta la aparición del nuevo virus su patogenicidad era una de las más altas entre los virus de Gumboro. A través de los estudios realizados con anticuerpos monoclonales se demostró que el virus aislado de estos brotes pertenece al serotipo 1 clásico y que no se trata de una variante. La principal diferencia con otros virus clásicos de Gumboro es su extrema patogenicidad. (12).

El VEBF puede ser aislado rápidamente de la mayoría de los tejidos linfoides durante los estados iniciales de la enfermedad (3 a 6 días -- postinfección), sin embargo la Bursa, principalmente órgano blanco, -- contiene grandes concentraciones de virus por períodos más largos y por ello se le considera el tejido de elección para los intentos de aislamiento (7). También el Bazo se le considera órgano importante para el aislamiento del VEBF (10).

Los VEBF, tanto virulentos como vacunales, pueden multiplicarse en embriones, de pollo de 9 a 11 días de edad procedentes de gallinas libres de anticuerpos maternos contra la enfermedad de Gumboro. (7).

La membrana corionalantoidea es la mejor ruta para el aislamiento del virus (7,10).

El porcentaje de lesiones en embriones y la mortalidad van a variar dependiendo del tipo de VEBF ensayado. Las cepas "olásicas" de VEBF aisladas, cuando se inocula por la ruta de la membrana corionalantoidea, pueden matar a embriones de 3 a 5 días postinoculación. A la muerte los embriones están congestionados con hemorragias petequiales y equimóticas evidentes en el tejido cutáneo, particularmente a lo largo de los tractos de la pluma, hemorragias ocasionales en las articulaciones de los dedos y en el área cerebral. Los hígados pueden estar necróticos, aunque generalmente, tienen una apariencia pálida de medio codido, mientras el Bazo está de color rosado o carente de color, de tamaño pequeño o normal con ocasionales pequeños focos necróticos.

Las membranas corionalantoideas no se afectan aunque algunas veces se han observado hemorragias aisladas en su superficie. (7) .

Básicamente, para la medición de anticuerpos en el suero contra el VEBF, contamos en México con 3 pruebas;

Prueba de precipitación de Agar: Es una prueba que detecta antígenos de grupo por lo que no puede emplearse para identificación de cepas variantes. Su aplicación práctica es la de emplearse para detectar un brote de la infección de la Bolsa de Fabricio, cuando la prueba resulta positiva podemos pensar que el virus de la infección de la Bolsa de Fabricio infectó a las aves 10-12 días antes.

De ésta manera se pueden hacer los ajustes pertinentes en el calendario de vacunación, las cepas vacunales aparentemente no dan resultados positivos a ésta prueba por lo menos después de una previa vacunación. (13) .

Prueba de Elisa. Es una prueba cuantitativa. Tiene la ventaja de que necesita de menos tiempo y es menos laboriosa que la prueba de virus suero-neutralización. Sin embargo tiene la desventaja que no detecta un punto final en la presencia de anticuerpos. (13) .

Virus suero-neutralización:

Los anticuerpos neutralizantes son anticuerpos capaces de detener la multiplicación (infección) de un virus en una célula susceptible. Existen dos procedimientos para determinar anticuerpos neutralizantes: El método Alfa y el método Beta. Este último es el más utilizado y que mayormente se usa en nuestro país.

En el método Beta se utiliza una cantidad constante de virus y diluciones dobles seriados del suero. La mezcla virus suero es incubada - para permitir la reacción de neutralización y en seguida se aplica en - embriones de pollo o cultivo de células. El título virus neutralizante del suero se define como la última dilución del suero donde se observa una neutralización completa del virus. Actualmente el ensayo se lleva a cabo, utilizando cultivo de células para determinar anticuerpos contra el virus de la Bronquitis infecciosa, el virus de la infección de la -- Bolsa de Fabricio, Reovirus, Adenovirus 127 (EDS-76) y Adenovirus del tipo 1 (Hepatitis con cuerpos de Inclusión) (22).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

Recientemente brotes excesivamente fuertes de enfermedad respiratoria crónica complicada (ERCC) se han reportado en granjas dedicadas a criar pollos de engorda, tanto local como nacionalmente. Mortalidades elevadas, resistencia a los antibióticos, aumento del costo de mano de obra (hasta 3 inyecciones de antibióticos por parvada a lo largo del ciclo de engorda), aumento en el número de animales de deshecho, han sido características de estos "nuevos catarros" que han afectado a todos los negocios avícolas en mayor o menor grado. Los problemas respiratorios han ocupado el primer lugar de importancia a nivel Nacional e Internacional. (°,25,27).

Estos severos brotes de ERCC que se han padecido recientemente pueden ser resultado de una inmunodepresión, que entre otros factores, puede ser ocasionada por el VEBF (26). Por comunicaciones personales sabemos que en la región se han tenido parvadas con grandes variaciones en cuanto a su título de anticuerpos contra Newcastle así como títulos bajos contra ésta misma enfermedad. Lo que también puede ser indicio de un problema de inmunodepresión (11, °°). La enfermedad de Gumboro es un problema grave y constante encontrándose entre las 3 enfermedades más importantes a nivel Nacional (27). Los pollos criados bajo condiciones comerciales tienen altas probabilidades de exponerse a la enfermedad desde las fases más tempranas de su vida, siendo precisamente en ésta etapa cuando es más severa la inmunodepresión (28).

- ° Asociación de Veterinarios Especialistas en Ciencias Avícolas de Guadalajara, Jal. (Comunicación Personal) Agosto 1990-Marzo 1991, reuniones mensuales.
- °°Trigueros Morales Fermín M.V.Z. 1990. Gerente de producción Industrias MR. POLLO S.A. de C.V. (comunicación personal). Guadalajara, Jal.

A ciencia cierta se desconoce si existen en nuestro país cepas variantes del VEEF ya que no se han hecho estudios acerca de este problema (8,13).

Sin embargo las lesiones y descripciones clínicas señaladas en la Literatura (6,7,14,24,25,28), coinciden con algunas observaciones hechas en campo por Veterinarios (°), a pesar de que no existe evidencia de laboratorio que confirme la presencia de estas cepas. Por ello aún en el caso de no existir actualmente éste problema en la importación regular de reproductoras, huevo fértil y pollo recién nacido de E.U.A. a otros países, como México, la situación puede cambiar de un día a otro. (26) .

Hay más factores que pueden contribuir a la exacerbabción de casos de la infección de la Bolsa de Fabricio, como son:

Las prácticas de manejo inadecuadas. En los últimos años la Industria Avícola ha disfrutado de una atmósfera económica muy favorable en los E.U.A. y en México ha sido una de las industrias pecuarias menos afectadas, ésto ha provocado que las instalaciones sean usadas al máximo y con espacios muy cortos de tiempo entre una parvada y otra, así es común ver la llegada del pollo recién nacido por la puerta de adelante cuando por atrás aún están sacando pollinaza, las desinfecciones a la carrera son cada vez más frecuentes, ésto provoca un mayor nivel de exposición a los virus de campo (28) .

Existe una excesiva información basada en opiniones y en observaciones clínicas a nivel de campo las cuales son confusas y sobre todo no apoyadas con el laboratorio y así tenemos que pocas veces se hace metódicamente un chequeo serológico de Gumboro para conocer el nivel de inmunidad materna, títulos producidos por la vacuna o si existen altos títulos por brote. (26) .

° Asociación de Veterinarios Especialistas en Ciencias Avícolas de Guadalajara, Jal. (comunicación personal). Agosto 1990-Marzo 1991. Reuniones mensuales.

JUSTIFICACIÓN:

El agravamiento de la Enfermedad Respiratoria Crónica Complicada puede ser debido a problemas de inmunosupresión y en especial de Gumboro, entre otros. Y aunque ha sido descrito bastante en la Literatura no ha sido estudiado de manera concluyente, en especial en nuestra región.

Por esto no contamos con una información producto de investigaciones de laboratorio y de campo que nos permite tomar decisiones más precisas al respecto. Además no se manejaron porcentajes en el presente estudio porque no hay bases que nos respalden en la bibliografía consultada.

El presente trabajo pretende ser de utilidad general a clínicos y técnicos de la Avicultura local y Nacional. Queremos acercarnos a la verdadera dimensión del problema de Gumboro en nuestra Zona, saber si está o no presente en los brotes en los cuales se ha sospechado su presencia.

De obtenerse resultados positivos sabríamos con mayor seguridad -- por qué se ha agudizado el problema de Enfermedad Respiratoria Crónica Complicada en las parvadas de pollo de engorda en la zona.

De obtenerse resultados negativos podríamos hacer estudios más detallados sobre este punto ó buscar otras posibles causas de inmunosupresión o resistencia en bacterias o manejos inadecuados que impiden la solución directa del complejo Enfermedad Respiratoria Crónica Complicada en pollo de engorda.

OBJETIVO GENERAL:

Determinar la presencia del virus de la Enfermedad de Gumboro en brotes de Enfermedad Respiratoria Crónica Complicada en la zona de -- Guadalajara, en explotaciones de pollo de engorda.

OBJETIVOS PARTICULARES:

Determinar la presencia de anticuerpos de Gumboro a través de la técnica Virus Suero-Neutralización, en aves no vacunadas y afectadas por Enfermedad Respiratoria Crónica Complicada.

Establecer la presencia del virus en dichas aves a través de oultivos en embriones de pollo susceptibles.

HIPOTESIS:

Si los pollos procedentes de parvadas infectadas por la Enfermedad Respiratoria Crónica Complicada, no inmunizados previamente contra Gumboro tienen anticuerpos hacia ésta enfermedad y si además los macerados de bazo y bolsa de fabricio de estas aves producen las lesiones características de la Enfermedad de Gumboro en embriones de pollo susceptibles, quedará demostrada la presencia del virus en parvadas estudiadas.

MATERIAL Y METODOS:

Se utilizó el siguiente material para la presente investigación:

10 lotes de pollos (10 pollos en cada uno) no vacunados contra la Enfermedad Infecciosa de la Bolsa de Fabricio de 6 semanas de edad, (máximo) y 5 semanas de edad (mínimo).

Se obtuvieron 30 embriones de pollo SPF (libres de patógenos específicos) para la inoculación de macerados (Bolsas y Baños) y posterior observación de lesiones en caso de presentarse por este agente viral (Enfermedad de la Bolsa).

Cultivos Celulares (fibroblastos de pollo) para la verificación de las reacciones de neutralización viral en los depósitos de las placas de aglutinación dispuestas para la medición de los títulos de anticuerpos neutralizantes en la prueba de virus suero-neutralización.

Antisueros específicos de la enfermedad de Gumboro (control +) - sueros control - , ambos elaborados en aves libres de patógenos específicos y extraídos de ellos.

Cepa viral de Gumboro de alto título no autoaglutinable indispensable para esta prueba.

Así como los siguientes materiales de laboratorio:

Estufa de cultivo

Jeringas desechables estériles (cal. 25) 50 de ellas

Incubadora

Placas de aglutinación

Microscopio

Mortero

Micropipetas

Centrifuga

Mecheros de Bunsen

Pipetas serológicas

Tubos de Ensayo

Se detectaron 10 parvadas en diferentes puntos de la zona de Guadalajara afectadas de Enfermedad Respiratoria Crónica Complicada, que no habían sido vacunadas contra el virus de la infección de la Bolsa de Fabricio, seleccionándose 10 aves al azar de cada parvada con signos -- clínicos de enfermedad, identificándoseles a las aves por medio de anillos numerados del 1 al 10, y denominándose a cada lote con las letras correspondientes (de la A a la J).

Las aves se trasladaron al laboratorio donde se procedió a extraer sangre de cada ave para la obtención del suero, con la cual se llevó a cabo la prueba de suero-neutralización, método Beta, que es la más utilizada (1,2).

Todas las aves muestreadas fueron de una edad de entre 5 y 6 semanas para evitar en lo posible, el estar midiendo anticuerpos de tipo pasivo adquiridos por vacunación de las reproductoras. (10).

Los niveles de anticuerpos se determinaron mediante la prueba de - neutralización viral en fibroblastos de embrión de pollo siguiendo la - técnica sugerida por Purchase (7).

El título de anticuerpos se obtuvo de la última dilución del suero donde se observó una neutralización completa del virus.

De las aves con un mayor título de anticuerpos contra Gumboro de - cada lote se hicieron macerados de Bazo y Bolsa de Fabricio según lo sugerido (7,10) con un medio conteniendo antibiótico, usándose en este caso Sulfato de Estreptomicina, se inoculó con jeringa y aguja tipo insulina los embriones por vía saco-alantoideo. (3 embriones por cada lote).

En los casos que no hubo títulos de anticuerpos en algún lote se - tomaron muestras al azar y se inoculó a 3 embriones. Posterior a la inoculación se incubaron estos embriones por 7 días (2 mas de lo indicado) debido a que en cepas variantes 7 son los días que se mencionan que causan lesiones al embrión.

Estadísticamente se realizó un estudio transversal empleando la prueba de regresión y correlación lineal, que implica la búsqueda de la asociación que existe entre las 2 variables obtenidas en una muestra siendo la variable independiente el factor causal (Enfermedad de Gumboro) y la dependiente el efecto (Enfermedad Respiratoria Crónica Complicada) (17).

RESULTADOS:

En ninguno de los lotes de pollos se presentaron títulos de anticuerpos mayores de 1 a 40 y los macerados de bazo y bolsa de fabricio de éstas aves no produjeron las lesiones características de la Enfermedad de Gumboro en embriones de pollo susceptibles.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas - - - -
($P < 0.01$) entre los datos observados y los esperados.

La gráfica 1 muestra de manera global los títulos de anticuerpos - que se detectaron contra la Enfermedad de Gumboro en el presente trabajo en los 10 lotes marcados de la A a la J.

En el cuadro 1 se presentan los resultados serológicos provenientes de los pollos de engorda representados en sus respectivos lotes e identificándose el número de muestra a la que pertenece. Se usó la prueba de suero-neutralización en estos grupos de aves, las cuales tenían una edad de 5 y 6 semanas de vida.

Para el aislamiento del virus fueron inoculados 30 embriones de pollo (de 9 a 11 días de desarrollo embrionario) vía membrana corion -- alantoidea correspondiéndoles 3 embriones a cada lote determinado.

Los resultados observados en embriones fueron en su totalidad negativos por lo cual no se expone en el cuadro ilustrativo.

La observación de embriones se llevó a cabo por la inspección diaria de los mismos durante el lapso de 7 días.

El cuadro número 2 nos muestra en forma concreta la interpretación de la gráfica No. 1, dándonos los valores de los títulos de anticuerpos sumados por lote y el total de ellos.

RESULTADOS (CUADRO No. I)

LOTES

NO. DE MUESTRA

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	0	5	0	5	0	10	0	0	0	5
2	0	0	5	0	5	0	0	0	0	5
3	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0
4	10	0	0	10	0	0	0	0	0	5
5	0	5	0	0	5	0	0	0	0	0
6	5	5	5	5	5	5	5	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	5	10	0	0	0	0	0
9	5	0	10	0	0	0	0	0	0	5
10	10	0	5	0	5	0	5	0	5	10

TITULOS DE ANTICUERPOS CONTRA LA ENF. DE GUMBORO

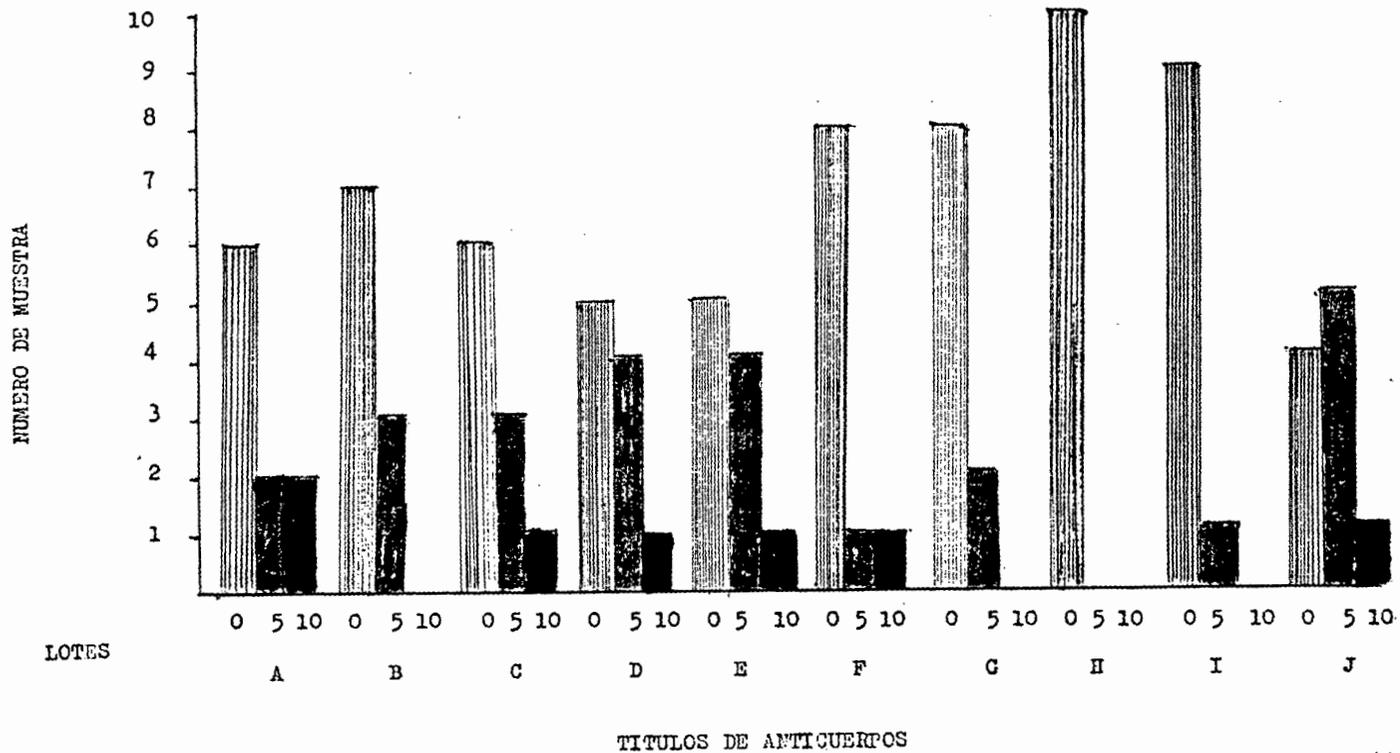
(CUADRO No. 2)

TITULOS DE ANTICUERPOS

	0	5	10
A	6	2	2
B	7	3	0
C	6	3	1
D	5	4	1
E	5	4	1
F	8	1	1
G	8	2	0
H	10	0	0
I	9	1	0
J	4	5	1
TOTALES	68	25	7

SUMA DE MUESTRAS ACORDE A SU TITULO DE ANTICUERPOS Y A SU LOTE PERTENECIENTE.

GRAFICA No. I



DISCUSION:

Los resultados de este trabajo muestran que no hubo infección por el virus de Gumboro en las 100 aves estudiadas, procedentes de 10 parvadas afectadas con Enfermedad Respiratoria Crónica Complicada. Sin embargo clínicamente en las parvadas de procedencia, los brotes observados fueron severos y las infecciones bacterianas fueron persistentes -- en su gran mayoría, no habiendo en algunas parvadas respuesta a los -- tratamientos antibacterianos dados. Existiendo en la mayoría de las aves muestreadas Bolsas de Fabricio anormales. Estas apreciaciones clínicas coinciden con lo mencionado (1,7,9,13), como casos de inmunosupresión por Gumboro, sin embargo ésto no se demostró ni serológicamente ni por aislamiento viral, lo que permite considerar como posible -- causa otro factor inmunosupresivo como podría ser las aflatoxinas, pero ésto solo es clínicamente ya que faltaría un estudio de inhibición de la hemaglutinación para títulos de Newcastle para confirmar si existe esa inmunodepresión o el factor pueda ser una resistencia severa de las bacterias de la región a antibióticos usados comunmente. Como comentario adicional se puede anotar que se hicieron aislamientos de Escherichia Colli en bolsa de fabricio lo que podría indicar el porque hay un tamaño anormal en las bolsas de fabricio y la contaminación de 2 embriones por esta Bacteria, sin embargo hasta que no pudiera demostrarse, reproduciendo el cuadro y haciendo estudios histopatológicos -- podría afirmarse lo anterior (11).

Los títulos de anticuerpos encontrados contra el virus de Gumboro en estas aves por medio de la prueba de suero-neutralización fueron de un título máximo de 10 y en su gran mayoría de 0. Esto coincide por lo ya mencionado (1,8,10). Que posterior a 4 o 5 semanas los títulos encontrados son mínimos o nulos, existiendo ya gran susceptibilidad de -- las aves. Los títulos de 10 y 5 encontrados en estas aves se les considera nulos según lo indicado por Pérez Márquez (22) que señala un mínimo de 40 para considerarlos como positivos. (22).

CONCLUSIONES:

Debido a que en los 10 lotes de aves estudiados que presentaron problemas de Enfermedad Respiratoria Crónica Complicada no fué aislado el virus de la Enfermedad de Gumboro, se concluye que éste no se considera como el agente desencadenante de dicho problema respiratorio.

SUGERENCIAS:

Se sugiere continuar los estudios sobre este tema en nuestra zona para determinar la presencia de la Enfermedad del virus de Gumboro.

Establecer mediante investigaciones posteriores la importancia de la Enfermedad de Gumboro en nuestra zona como agente inmunosupresor y por consecuencia desencadenante de los problemas respiratorios presentados frecuentemente en las parvadas de pollo de engorda.

Se sugiere investigar si existen o no cepas variantes del virus de la Enfermedad de Gumboro en esta zona.

RESUMEN:

Se realizó un muestreo en 10 parvadas de pollo de engorda que no estuvieran vacunadas contra Gumboro y que hubieran presentado problemas severos de Enfermedad Respiratoria Crónica Complicada aunado a pocas respuestas a los tratamientos con antibióticos.

Se recogieron 10 pollos por parvada de edades comprendidas de 5 a 6 semanas, para tomar pruebas serológicas y correr las pruebas de virus sero-neutralización, posteriormente hacer los macerados de bazo y bolsa de fabricio en aves que presentaran titulación alta de anticuerpos, para inocular los embriones de pollo vía corion-alantoidea y observar lesiones durante 7 días post-inoculación (en caso de presentarse).

Los títulos de anticuerpos resultantes de las pruebas de virus sero-neutralización se consideraron nulos ya que presentaron rangos menores de 40 (estos no fueron mayores de 10).

En los resultados de las inoculaciones en embrión de pollo fueron todos negativos.

En el análisis estadístico se realizó un estudio transversal empleando la prueba de regresión y correlación lineal encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.01$) entre los datos observados y los esperados.

BIBLIOGRAFIA:

- 1.- Avimex Laboratorios 1989 Boletín Técnico. México, D.F.
- 2.- Barnes H. J. et. al. 1983 Avian Disease Manual. AAAP. University of Pennsylvania. U.S.A. pp. 32-34.
- 3.- Chettle N.J. Wyeth P.J.; 1990. Falta de protección de los anticuerpos maternos contra la enfermedad de Gumboro (serotipos 1 y 2) contra virus bacteriologos. Correo Avícola Vol. III, Núm. 7 - Julio de 1990. México, D. F. pp. 15-18.
- 4.- Correa Girón Pablo M.V.Z. M.A. 1981. Enfermedades virales de los animales domésticos (monogástricos), tercera edición del Autor México, pp. 291-314.
- 5.- Giambrone J.J. 1989 control de los subtipos virales en la enfermedad por infección de la Bolsa de Fabricio. Memorias VI Curso Anual Progenitoras Arbor Acres. Torreón Coahuila, México, pp. --- 163-171.
- 6.- Giambrone J.J. 1989. Programa del efecto de la vacunación en reproductoras y los anticuerpos maternos en la inmunización de la progenie. VI curso anual de progenitoras Arbor Acres. Torreón, -- Coah. México, pp. 183-193.
- 7.- Graham Purchase M. et. al. 1989. A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens. Third Edition AAAP. University of Pennsylvania U.S.A. pp. 165-167.
- 8.- Gómez Carlos Antonio 1991. Sistema Inmunológico de las Aves. Memorias del Curso de Actualización sobre inmunología, micoplasmosis, complejo respiratorio, Gumboro y Mareck, Avecao Tepatitlán Jal.
- 9.- Griev D. 1989. Cepas variantes de la infección de la Bolsa de Fabricio XIV Convención Anual Aneca Puerto Vallarta, Jal.
- 10.- Hofstad M. S. 1984. Disease of poultry 8 ed. Iowa State University U.S.A. pp. 560-576.
- 11.- Illescas Castillo J.J. Q.B.P. 1990-1991 Comunicación personal, Guadalajara, Jal.

- 12.- Kouwnhoven^B Dr. 1990. Enfermedad de Gumboro el punto de vista - Europeo, Memorias VII Seminario de Patología Aviar Athens Georgia, U.S.A. pp. 298-305.
- 13.- Lucio Decavini E. 1990. La infección de la Bolsa de Fabricio. - primera jornada Médico Avícola UNAM-ANECA México, D. F. pp. 1-17
- 14.- Lucherf P. D. 1986 Control de la enfermedad de Gumboro VI Seminario de Patología Aviar. Athens Georgia U.S.A. pp. 132-137.
- 15.- Márquez Miguel A. 1983. Resultados Serológicos obtenidos en una parvada de pollo de engorda procedentes de madres inmunizadas con una vacuna inactivada en vehículo oleoso para la prevención. De la infección de la bolsa de fabricio (enfermedad de Gumboro) Memorias VIII Convención Anual Aneca Ixtapa Zihuatanejo, Gro. -- pp. 6-23.
- 16.- Márquez M.A. Fernández V.C. Garza 1987; Estudio serológico de la cepa D 78 del virus de la infección de la bolsa de fabricio en aves con altos títulos de anticuerpos maternos. Memorias XII - Convención Anual Aneca Ixtapa Zihuatanejo Gro. pp. 152-154.
- 17.- Méndez Ramírez y Col. 1987, El protocolo de investigación Editorial Trillas México.
- 18.- Merck y Co. Inc. 1986 Merck Veterinary Manual 6th Edition U.S.A.
- 19 - Mozqueda Taylor, Lucio Benjamín, 1985 Enfermedades comunes de las aves domésticas. Edición del Autor México.
- 20.- ODOR. E.M. Rosemberg J. Cloud S. Sales M. 1989. Pruebas de desafío contra IBF. Memorias del curso de actualización sobre reproductoras y su progenie. Aneca México, D. F. pp. 28-36.
- 21.- Pérez Márquez Victor M. 1990 aspectos generales sobre inmunosupresión aviar. Memorias del curso de Inmunopatología Aviar. Aneca, México, D. F. pp. 2-13.
22. Pérez Márquez Victor M. 1989. Taller de la aplicación de algunos métodos serológicos en la industria avícola . AVECAO ANECA. Tepetitlán, Jal.
- 23.- Pérez Becerra, Rebeca 1988 Virus suero-neutralización Memorias de Inmunología, Aviar . ANECA-UNAM México pp. 68-70.
- 24.- Rosales Gregorio 1987. Enfermedad Infecciosa de la Bolsa de Fabricio, Enfermedad de Gumboro, cepas variantes. Memorias III Convención Anual Aneca, Ixtapa Zihuatanejo, Gro. pp. 3-7

- 25.- Rosales Gregorio 1989, Control de la enfermedad de Gumboro y sus variantes. Avic. Prof. Vol. 7 " 2 pp. 70-72.
- 26.- Ruud Wein. 1989. Situación actual de la infección de la Bolsa de Fabricio. Memorias XI V Convención Aneca Puerto Vallarta, Jal. pp. 183-187.
- 27.- Senties Cue Gabriel 1988. Impacto económico de las principales enfermedades que afectan a las aves de engorda y postura en México Memorias XIII Convención Anual Aneca. Acapulco Gro. pp.179-185.
- 28.- Sharma J. M. 1990 Efecto de la genética el medio ambiente en la temperatura y la inmunosupresión. Memorias de Inmunopatología Aviar. Aneca, México, D. F. pp. 40-47.
- 29.- Sharma, J. M. 1986 Vaccination Against Infections Bursal Disease Memorias XI Convención Anual Aneca, Puerto, Vallarta, Jal. pp. 174-175.