

176 *Enjine*

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**LA PRUEBA DEL FIM EN EL CONTROL DE VA-
CUNAS CONTRA LA INFECCION DE LA BOLSA
DE FABRICIO (IBF)**

T E S I S
PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A

ANGEL RETANA REYES

ASESORES: M.V.Z. AURORA VELAZQUEZ ECHEGARAY
M.V.Z. RICARDO CUETOS COLLADO

MEXICO, D. F.

1981

TESIS DONADA POR
D. G. B. - UNAM



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

C O N T E N I D O

	Pág.
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODOS	9
RESULTADOS	12
DISCUSION	20
CONCLUSIONES	24
BIBLIOGRAFIA	25

R E S U M E N

El criterio que se sigue en el control de vacunas contra la IBF, se basa en la observación de lesiones macroscópicas que produce el virus virulento, proporcionando resultados dudosos, debido a que la enfermedad no causa gran mortalidad y las lesiones no son muy aparentes cuando no existen asociaciones del virus con otras infecciones.

El propósito de este trabajo fué ver si la prueba del FIM, que mide inmunidad celular podría utilizarse para complementar la prueba de potencia.

Se vacunaron 4 grupos de 20 pollos de 3 a 6 semanas de edad, con diferentes cepas vacunales contra la IBF y un quinto grupo sin vacunar (testigo). 21 días después de la vacunación se sangraron para efectuar la prueba del FIM. Los 5 grupos a los 23 días post vacunación, se expusieron al virus patógeno, sacrificándose al quinto día después de la exposición se notó una clara relación entre la protección adquirida por la vacuna y presencia de lesiones macroscópicas en la Bolsa de Fabricio.

La prueba del FIM reveló una clara diferencia en animales vacunados y no vacunados.

I N T R O D U C C I O N

La Infección de la Bolsa de Fabricio (IBF) es una enfermedad que afecta al Gallus domesticus de etiología viral altamente contagiosa para pollos de 3 a 6 semanas de edad. Recientemente se ha reportado el aislamiento del virus en el guajolote (Melagris gallopavo) (27). Sospechándose además su presencia en el gorrión silvestre y en la codorniz. (1,3,6,14, - 35).

La enfermedad fué reportada por primer vez, por Cosgrove (6) en 1962, al estudiar un brote que se presentó en Gumboro, población en Delaware E.U.A. . El autor le llamó "Enfermedad de Gumboro" la cual por esa época se confundió con el síndrome nefritis-nefrosis. No es sino hasta 1964, en que Wienterfeld establece que esta última enfermedad se debe a variantes de la Bronquitis infecciosa y que la signología descrita por Cosgrove, tenía otra etiología (2,3,22,28). Hitchner propuso para no seguir confundiendo estas dos entidades patológicas, cambiarles la terminología, dándoles en nombre de Bronquitis infecciosa a las cepas causantes del síndrome nefritis-nefrosis e infección de la Bolsa de Fabricio (IBF) a los brotes con signología y lesiones descritas por Cosgrove en 1962. (1,2, 3, 20)

Esta enfermedad ha sido reportada en Inglaterra en 1962. En Italia, Israel y Alemania en 1965. En Suecia 1967. España y Rumanía 1968. Grecia, Polonia y Francia en 1969. La Enfermedad se

ha reportado también en la India y Sud-Africa. En América se le ha detectado, en Estados Unidos de América, Puerto Rico, Brasil, Venezuela, Chile y Canadá. (14, 22)

Estudios estadísticos y serológicos (7) demuestran que en nuestro país, esta enfermedad va en aumento, alcanzando en áreas avícolas una incidencia del 90.5 % caracterizándose los brotes por su violenta presentación con una mortalidad del 0 al 30 % pero con una morbilidad hasta del 100 % (6, 7, 23).

El agente causal de la IBF es un virus cuya clasificación no está bien definida, aunque temporalmente se ha clasificado dentro de la familia Reoviridae. Es un virus icosaédrico con un diámetro de 55 a 65 nm., con cápside simple y dos cadenas simples de RNA su peso molecular es de 2×10^6 , tiene una densidad de flotación de 1.344 g/ml. en cloruro de cesio (CsCl) . La infectividad del virión persiste después del calentamiento a 60°C durante 90 minutos, es resistente al éter, cloroformo, tripsina y pH bajos. No produce hemoaglutinación y se localiza en el citoplasma de linfocitos y macrófagos. Es inestable a un pH de 12, muere por acción de la cloramina al 0.5 % en 10 minutos y en contacto con la formalina al 1 % pierde su poder infectante. (1, 22, 25)

Las aves adquieren el virus por vía oral, pasa a proventrículo, molleja y duodeno pudiéndose demostrar en las primeras 12 horas a nivel entérico por la prueba de inmunofluorescencia (34). En el intestino el virus va y se localiza en placas de Peyer, inmediatamente se presenta una viremia temporal llegando de esta manera a bazo y

Bolsa de Fabricio. La principal multiplicación viral se efectúa en los centros germinales linfáticos de la Bolsa de Fabricio conduciendo a que se presente una severa necrosis, desapareciendo las células linfoides y quedando únicamente fragmentos celulares, además los espacios necrosados son ocupados por células del sistema retículo endotelial conduciendo éste proceso a una atrofia total de este órgano. A las 24 horas post, infección se produce una linfocitosis y una disminución de heterófilos; al empezar la multiplicación viral en bazo, timo, placas de Peyer y Bolsa de Fabricio, se produce una linfocitopenia, ocasionada por la destrucción del tejido linfoide; en macrófagos se encuentran cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos. La destrucción de las células linfoides conduce a que se presente una hiperplasia compensatoria de las vainas adenoides a nivel esplénico y en la Bolsa de Fabricio, llevándose a cabo una necrosis fibrinoide. El virus es eliminado aparentemente por las heces. (6,8,19,34).

Todo este proceso da como resultado que la destrucción de la Bolsa de Fabricio, produzca inmunosupresión y por consiguiente el ave se vuelve altamente susceptible a todo tipo de infecciones. (14,15,16,19,29)

Uno de los métodos de profilaxis es la vacunación de pollos susceptibles de 2 a 3 semanas de edad, en dicha práctica, se utilizan vacunas de virus activo modificado en tejido de riñón de pollo, cepas Lukert, FVB77 y virus muerto tal es el caso de las cepas FB y VN:O . (12, 15, 16)

En la producción de estas vacunas, se emplean embriones de pollo de 9 días de edad, libres de patógenos específicos, que son inoculados por vía saco alantoideo con la semilla vacunal. Posteriormente, a las 48 y 72 horas son cosechados, los fluidos amnioalantoideos y el producto triturado de las membranas corioalantoideas son mezclados, se estabiliza el producto, se agregan antibióticos y finalmente se procede a liofilizar. (12, 15, 35).

En el control de biológico, la vacuna se somete a pruebas de esterilidad, estabilidad, inocuidad y potencia. (12)

La prueba de esterilidad consiste en el análisis bacteriológico y virológico, usando medios selectivos y nutritivos para el crecimiento de aerobios y anaerobios y embriones de pollo para el caso de virus, se debe demostrar que el producto está exento de cualquier tipo de bacterias, levaduras y hongos, así como también de virus hemoaglutinantes de las aves como, bronquitis, viruela o laringotraqueitis. (12)

En estabilidad, el producto deberá mantener un título mínimo de 10^3 Dosis infectante cultivo de tejidos 50 % (D.I.C.T. 50 %) por dosis ave, hasta 3 meses después de la fecha de caducidad (12)

Para probar la inocuidad, se vacunan por lo menos 10 pollitos de 1 a 5 días de edad con el doble de la dosis del biológico por vía subcutánea. Las aves son observadas durante un periodo de 21 días post- vacunación y no deberán morir, ni presentar signos de anormalidad alguna atribuible a la vacuna. (12)

Para la prueba de potencia se forman dos grupos de 10 pollos de 1 a 2 semanas de edad, tomando el primer grupo como control y el segundo se vacuna con el biológico en estudio, ambos grupos se mantienen en aislamiento durante 21 días. A este tiempo se desafían los dos grupos aplicando 0.03 ml. por vía ocular del virus, que representa 100 dosis infectante pollo 50 % (O.I.P. 50 %). Después del desafío, las aves son observadas durante 5 días llevando-se el registro de mortalidad si se presenta, si no se sacrifican los animales para observar las lesiones cuando menos, en el 80 % del grupo control, estas lesiones son: edema peribursal y hemorragias. Los animales vacunados no deberán presentar este tipo de lesiones y si las hay, no deberán exeder al 20 % de los animales (12)

El criterio para controlar las vacunas que se describió anteriormente, es muy subjetivo ya que la simple observación de lesiones macroscópicas pueden dar resultados dudosos, debido a que la enfermedad no causa gran mortalidad y las lesiones no son muy aparentes cuando no existen otras infecciones.

Se sabe que las aves poseen una clara separación en el sistema linfoide, que les dá la capacidad para responder eficientemente al estímulo antigénico, dando una respuesta inmune (31). La inmunidad de tipo humoral que está dada por linfocitos B, diferenciados en Bolsa de Fabricio, los cuales son activados para evolucionar a células plasmáticas y estas liberan anticuerpos específicos. La inmunidad celular que está dada por linfocitos T diferenciados en el timo los que al sensibilizarse liberan linfocinas que colaboran a eliminar el antígeno. (21)

Estas linfocinas son proteínas con pesos moleculares entre 25,000 a 75.000 daltones, entre ellas se encuentran:

Factor de transformación

Linfotoxina

Factor reactivo cutáneo

Factor de agregación de macrófagos

Factor quimiotáctico

Factor Inhibidor de la proliferación

Interferon

Factor mitogenico

Factor Inhibidor de la migración (FIM), (21, 31)

Del FIM se sabe que es un ácido glicoprotéico cuyo peso molecular es de 35,000 a 55,000 daltones, el cual permanece activo después del calentamiento a 56°C durante 30 minutos, no es dializable y su actividad no se modifica por la DNasa ni la RNasa pero si por la tripsina. (4,9,10,11,21,31,32)

En la actualidad se han desarrollado técnicas in vitro para determinar la respuesta inmune, por medio de la detección de las linfocinas. Estas sustancias son eliminadas al medio de cultivo por los linfocitos sensibilizados, al ponerlos en contacto con el antígeno que estimuló su sensibilización -- (5,9,24,26,30,32).

La Técnica del FIM permite valorar la respuesta inmunológica de hipersensibilidad tipo IV in vitro, siendo altamente sensible en las investigaciones realizadas. (3,11,24,30, 32)

Morita (26) y Saldivar (30) trabajando en aves encontraron que con solo una pequeña cantidad de antígeno (0.1 ml), se desencadena el fenómeno de inhibición de la migración siendo además bastante específica.

El objetivo de este trabajo fue correlacionar la prueba de potencia descrita para las vacunas contra la IBF - y la prueba del FIM para conocer la respuesta inmunológica celular inducida por este Biológico.

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL BIOLÓGICO.- 100 pollos de engorda de 3 a 6 semanas de edad clínicamente sanos y no inmunizados a la IBF. Vacunas contra la IBF cepas Lukert, VNJO. EB, 32, y FVB 77. Virus patógeno de la IBF.

METODOS

.- Se formaron 5 lotes de 20 pollos cada uno y se mantuvieron en completo aislamiento.

Grupo 1 ; Se utilizó como testigo

Grupo 2 ; Fué vacunado con cepa Lukert.

Grupo 3 ; Con vacuna VNJO

Grupo 4 ; Vacunado con EB 32

Grupo 5 ; Se vacunó con cepa FVB 77

A los 21 días post-vacunación se sangraron todos los pollos de cada uno de los grupos y las muestras de sangre se sometieron a la prueba del FIM. A los 23 días post-vacunación se expusieron a la enfermedad aplicando por vía ocular 0.03 ml. del virus patógeno (100 D.I.P. 50 %) a la IBF, se llevo el registro de mortalidad, así como de las lesiones producidas y se compararon los resultados obtenidos con la prueba del FIM.

La técnica que se utilizó para la prueba del FIM, es la descrita por Saldivar (30), siendo de la siguiente forma:

- 1.- Tomar 10 ml. de sangre de ave usando como anti-coagulante Heparina ó E.D.T.A. (2 ml. al 1.5 % en solución salina).
- 2.- Centrifugar a 1500 rpm en centrífuga refrigerada durante 20 minutos en tubos de 10 cm X12 mm.
- 3.- Eliminar el plasma.
- 4.- Reconstituir el volúmen inicial con solución salina fisiológica y volver a centrifugar a 1500 rpm durante 20 minutos (hacer este mismo procedimiento 2 veces).
- 5.- Con un capilar extraer del tubo de centrifuga, la capa blanca llenándolo hasta las tres cuartas partes y sellar al calor.
- 6.- Centrifugar a 1000 rpm de tres a cinco minutos en una centrífuga clínica.
- 7.- Cortar los capilares en la interfase células medio, utilizando un lápiz de diamante ó una sierra de ampolletas.
- 8.- Colocar uno de los trozos del capilar que contiene los glóbulos blancos en el fondo de la cámara de Bloom, sobre una gota de silicón.
- 9.- Sellar la cámara con un porta-objetos y parafina.
- 10.- Llenar uno de los compartimientos de la cámara con medio mínimo de Eagles pH 8.2 (MME) en forma lenta con una jeringa.

- 11.- Llenar el otro compartimiento hasta la mitad, con MME y adicionar 0.1 ml. de antígeno y terminar de llenar con MME.
- 12.- Sellar los orificios con parafina.
- 13.- Mantener la cámara en posición vertical durante 5 a 10 minutos.
- 14.- Colocar la cámara en posición horizontal en un caja de Petri e incubar a 37°C durante 24 a 48 horas. Hasta este punto se siguió la técnica descrita por Saldívar, en adelante se describe una modificación a ésta técnica.
- 15.- Hacer la lectura con un amplificador, proyectando las áreas de migración sobre un papel milimétrico, delimitando éstas con un lápiz.
- 16.- Contar el número de mm² del área de migración.

Para obtener el porcentaje de migración de la muestra con antígeno, se sigue la siguiente ecuación:

$$\% \text{ DE MIGRACION} = \frac{\text{No. de mm}^2 \text{ del área de migración de la muestra con antígeno} \times 100}{\text{No. de mm}^2 \text{ del área de migración sin antígeno}}$$

- 17.- Para obtener el porcentaje de inhibición de la migración se resta a 100 el porcentaje de migración.

R E S U L T A D O S

Todos los grupos de aves a los 21 días post-vacunación se sangraron para efectuar la prueba del FIM y a los 23 días post-vacunación se expusieron a la enfermedad obteniéndose los siguientes resultados:

En el cuadro 2 se observa, que de 20 aves vacunadas con cepa Lukert, 17 fueron positivas a la prueba del FIM. A la prueba de potencia 15 animales no presentaron lesiones macroscópicas, en 2 casos se encontró hemorragias petequiales y exudado blanco amarillento. En 3 pollos solo se determinó un aumento de tamaño de la Bolsa de Fabricio considerándose estos como sospechosos. De lo que se interpreta como que únicamente 85% de los animales resistieron la exposición aunque de las 5 aves que presentaron lesiones 3 de ellas eran sospechosas. Las Bolsas de Fabricio de éstas aves se examinaron histológicamente, encontrando lesiones en una de ellas reportándose como positiva a la enfermedad y en los otros dos casos no se apreciaron cambios patológicos en los tejidos.

El lote vacunado con la cepa VNJO, (cuadro 3) de 20 aves, 16 fueron positivas a la prueba del FIM. A la necropsia se observaron 13 pollos que no presentaron lesiones en la Bolsa de Fabricio. De los 7 restantes en 4 se determinaron lesiones patognomónicas de la IBF y 3 solo exudado blanco amarillento, por lo que a las Bolsas de estas aves se les hizo el examen histopatológico, resultando negativas.

En el cuadro 4 se exponen los resultados obtenidos con la cepa ER 32 siendo 14 animales de 20 positivos a la prueba del FIM.

En la prueba de potencia, en 13 de 20 no se observaron lesiones; 2 de ellas se observaron en forma clara y 5 en forma dudosa. En el examen histopatológico resultó un caso negativo y 4 positivos.

El último grupo vacunado con la cepa FVB77 se determinó; a la prueba del FIM que 16 de 20 eran positivas. En la prueba de potencia se observó; 16 aves sin lesiones aparentes, en 3 de ellas piteculas, exudado blanco amarillento, aumento de tamaño de la Bolsa de Fabricio y la presencia de uratos en riñón, en 1 solo aumento de tamaño. Al examen histopatológico, la Bolsa de Fabricio mostró lesiones de la enfermedad.

El grupo número uno, que estaba formado por las aves no vacunadas, el 100 % fué negativo a la prueba del FIM (cuadro 1 y 6). En este grupo no se determinó la inhibición de la migración ya que no hubo inhibición sino migración. En la prueba de potencia se observaron lesiones características en 5 animales, 9 de ellas mostraron alteraciones que se calificaron como sospechosas y 6 de ellas no tenían aparentemente ninguna lesión. A los 9 casos sospechosos se les hizo el examen histopatológico, dando como resultado positivo.

CUADRO 1

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE POTENCIA Y PRUEBA DEL FIM EN AVES NO VACUNADAS CONTRA LA IBF (TESTIGOS)

PRUEBA DE POTENCIA (Presencia de lesiones macroscópicas en la Bolsa de Fabricio)

PRUEBA DEL FIM (% DE INHIBICION DE LA MIGRACION)

-	14
-	14
-	11
-	10
-	8
-	7
*+	6
*+	6
*+	5
*+	1
*+	0
*+	0
*+	0
*+	0
*+	0
+	0
+	0
+	0
+	0
+	0

T O T A L E S

(-)	Negativos	6	20
(+)	Positivos	5	0
(*)	Sospechosos	9	0

100 % negativos a la prueba del FIM

FIM = Factor Inhibidor de la Migración
IPF = Infección de la Bolsa de Fabricio

Nota:

Las Bolsas de Fabricio de los casos sospechosos se les hizo el examen histopatológico, resultando positivos.

CUADRO 2

RESULTADO A LA PRUEBA DE POTENCIA Y PRUEBA DEL FIM EN
AVES VACUNADAS CON LA CEPA LUKERT CONTRA LA IBF

PRUEBA DE POTENCIA
(Presencia de lesiones macroscópicas en la Bolsa de Fabricio)

PRUEBA DEL FIM
(% DE INHIBICION DE LA MIGRACION)

-	100
-	100
-	100
-	100
-	100
-	96
-	93
-	92
-	80
-	74
-	73
-	71
-	53
-	51
-	34
*-	22
*-	16
*+	9
+	0
+	0

T O T A L E S

(-) Negativos	15	3	
(+) Positivos	2	17	
(*) Sospechosos	3	0	
Protección	85 %	85	% de las muestras mostraron Inhibición

Nota:

A la Bolsa de Fabricio sospechosos se le hizo el examen histopatológico, resultando 2 negativos y un caso positivo.

CUADRO 3

RESULTADOS A LA PRUEBA DE POTENCIA Y PRUEBA DEL FIM
EN AVES VACUNADAS CON CEPA VNJO CONTRA LA IBF

PRUEBA DE POTENCIA
(Presencia de lesiones
macroscópicas en
la Bolsa de Fabricio)

PRUEBA DEL FIM
(% DE INHIBICION DE
LA MIGRACION)

-	100
-	93
-	93
-	92
-	91
-	91
-	80
-	76
-	63
-	62
-	55
-	51
-	51
*-	35
*-	22
*-	20
+	10
+	0
+	0
+	0

T O T A L E S

(-)	Negativos	13	4
(+)	Positivos	4	16
(*)	Sospechosos	3	0
	Protección	80 %	80 % de las muestras mostraron Inhibición

Nota .

A los animales sospechosos, se les hizo el examen histopatológico de la Bolsa de Fabricio, resultando negativos.

CUADRO 4

RESULTADOS A LA PRUEBA DE POTENCIA Y PRUEBA DEL FIM
EN AVFS VACUNADAS CON CFPA 32 CONTRA LA IBF

PRUEBA DE POTENCIA
(Presencia de lesiones
macroscópicas en
la Bolsa de Fabricio)

PRUEBA DEL FIM
(% DE LA INHIBICION
DE LA MIGRACION)

-	100
-	100
-	100
-	100
-	91
-	84
-	80
-	71
-	70
-	46
-	45
-	40
-	22
*-	22
**+	12
**+	11
**+	7
**+	6
+	1
+	0

T O T A L E S

(-)	Negativos	13	6	
(+)	Positivos	2	14	
(*)	Sospechosos	5	0	
	Protección	70 %	70 %	de las muestras mostraron inhibición.

Nota:

A las Bolsas de Fabricio sospechosas, se les hizo el examen histopatológico, resultando un caso negativo y 4 positivos

CUADRO 5

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE POTENCIA Y PRUEBA DEL FIM
EN AVES VACUNADAS CON CEPA EVB 77 CONTRA LA IBF

PRUEBA DE POTENCIA
(Presencia de lesiones
macroscópicas en
la Bolsa de Fabricio)

PRUEBA DEL FIM
(% DE INHIBICION DE
LA MIGRACION)

-	100
-	100
-	100
-	100
-	99
-	97
-	93
-	91
-	76
-	74
-	63
-	62
-	60
-	53
-	34
-	21
*+	11
+	1
+	0
+	0

T O T A L E S

(-)	Negativos	16	4
(+)	Positivos	3	16
(*)	Sospechosos	1	0
	Protección	80 %	80 % de las muestras mostraron Inhibición.

Nota:

La Bolsa de Fabricio de la ave sospechosa se le hizo examen histopatológico, resultando positivo.

C U A D R O 6

RESULTADOS COMPARATIVOS DE LA PRUEBA DFL FIM Y PRUEBA DE POTENCIA
EN 4 CPAS VACUNALES CONTRA LA IBF

PRUEBA DEL FIM		PRUEBA DE POTENCIA	
ANIMALES VACUNADOS	80	80	
POSITIVOS	63 (78.75%)	SIN LESIONES	63 (78.75%)
NEGATIVOS	17 (21.25%)	ANIMALES CON LESIONES	17 (21.25%)
		(No protegidos)	
		Animales con lesiones Francas	11 (13.75 %)
		Animales con lesiones Sospechosas	6 (7.5 %)
ANIMALES NO VACUNADOS	20	20	
POSITIVOS	0	SIN LESIONES	6 (30.0 %)
NEGATIVOS	20 (100 %)	ANIMALES CON LESIONES	14 (70.0 %)
		Animales con lesiones Francas	5 (25.0 %)
		Animales con lesiones Sospechosas	9 (45.0 %)

D I S C U S I O N

La inmunidad producida por la vacunas se mide mediante la prueba de potencia, En el caso de las vacunas contra la IBF, la prueba consiste en probar que la vacuna es capaz de evitar, en por lo menos el 80 %, de los animales vacunados, la presentación de lesiones macroscópicas en la Bolsa de Fabricio, cuando se exponen al virus virulento y se infiere, que la mortalidad se evitará en un porcentaje semejante . (12)

Se sabe que el virus de la IBF, en forma natural y por sí solo no produce una gran mortalidad sino que ésta proviene de las infecciones a las que los animales quedan muy susceptibles. (1,2,6,15,18).

De ahí la necesidad de detectar las lesiones que provoca el virus bajo condiciones controladas de laboratorio al quinto día post-desafío.

En el presente trabajo los resultados indican que no hubo mortalidad y que las lesiones macroscópicas fueron difíciles de determinar en forma franca, ya que en el grupo de animales no vacunados apenas se detectó en 14 de 20 aves expuestas al virus virulento y de ellos 9 presentaban alteraciones que hacían sospechar de la IBF.

Según Faragher (13), Helmboldt (18) y Valdés (34) las lesiones producidas por el virus en bazo, timo y Bolsa de Fabricio solo se aprecian en los primeros 4 días post infección ya que después de este tiempo se presenta un estado de reparación en los órganos involucrados. A las 24 horas post- infección se puede apreciar a nivel microscópico, la presencia de núcleos pignóticos y necrosis en los folículos de la Bolsa de Fabricio, A las 48 horas, se puede observar la presencia de células linfoides y edema interfolicular. Macroscópicamente entre 36 y 72

horas post-infección se puede observar edema peribursal, hemorragias petequiales y exudado blanco amarillento.

De lo anterior se puede deducir que la prueba de potencia recomendada para el control de este biológico, deberá de observarse entre las 36 y 72 horas, post exposición ya que, al quinto día, las lesiones si se detectan corresponden tal vez a procesos en estado de reparación que no pueden distinguirse fácilmente a simple vista y que pueden ser confundidas con lesiones producidas por otros agentes, cosa frecuente de observar con otras noxas que se presentan en pollos de esa edad, (4,22).

Se puede pesar y medir las bolsas de Fabricio de las aves en la prueba para determinar la hiperplasia producida por el virus patógeno (18), sin embargo Glick (17) y Valdés (34), indican que tanto en aves sanas como en las enfermas, presentan una gran variación en el peso y dimensiones de la Bolsa de Fabricio, por lo que basándose en este criterio, no se podría concluir que las Bolsas más grandes y pesadas correspondan a los animales afectados por el virus.

Por las razones expuestas anteriormente se puede concluir, que en el estado actual la interpretación de la prueba de potencia de las vacunas contra la IBF, tienen apreciaciones subjetivas, lo que puede dar como resultado una gran variación entre un laboratorio y otro, incluso entre un observador y otro.

En la prueba de potencia se observa que siempre se encontrarán animales en los que no se pudo determinar con exactitud la

-presencia ó ausencia de lesiones macroscópicas, quedando como sospechosos por consiguiente, dejando un margen de incertidumbre para determinar el título de la prueba de potencia de las vacunas.

Las bolsas de estos animales deben llevarse al laboratorio de Patología para ahí determinar si hay ó no lesiones producidas por el virus, lo que en muchas ocasiones retardará grandemente la posibilidad de dar un resultado rápido y oportuno. Si comparamos la inhibición de la migración con la supuesta lesión, podemos fácilmente señalar en caso que esta sea sospechosa, qué posibilidades tiene de ser positiva ó negativa. La prueba aquí descrita, nos muestra una gran significancia entre las dos pruebas, si tomamos en cuenta la lesión y el % de inhibición.

Varios autores han encontrado en sus Investigaciones que la prueba del FIM es un indicador de la inmunidad de tipo celular y que a la vez es sensible y específica. (4,5,11,24, 33) .

En este trabajo se observó, en todos los grupos de pollos vacunados, así como los controles, una determinación clara y precisa del porcentaje de inhibición de la migración de los macrófagos, considerando como positivos una inhibición mayor del 15%. Los animales no vacunados fueron 100 % negativos a la prueba como era de esperarse y en los 4 grupos vacunados se observó también una clara diferencia entre los animales que respondieron al estímulo vacunal y los que no reaccionaron.

Los resultados de este trabajo indican que no todas las aves vacunadas respondieron con inhibición de la migración, lo que puede atribuirse a varios factores tales como; títulos bajos de las vacunas ó incapacidad de los animales para responder al estímulo antígeno por causas desconocidas. De cualquier modo la prueba del FIM demostró que a través de ella, se pueden detectar en forma clara y objetiva los animales que responden al estímulo vacunal.

En el presente trabajo se introdujo una modificación a la técnica descrita por Saldivar (30), que consistió en proyectar el área de migración de los macrófagos sobre papel milimétrico, delimitando el área de la migración tanto del cultivo con antígeno como en el cultivo sin antígeno.

En el trabajo de Saldivar, las áreas de migración se proyectaban sobre un papel blanco, siendo delimitadas las áreas de migración y posteriormente pesadas en una balanza analítica. Estos dos últimos procedimientos introducen una gran fuente de variación y exige equipo sofisticado que algunos laboratorios no pueden tenerlo.

La prueba del FIM puede ser repetida varias veces ya que no es necesario el sacrificio de las aves y se pueden manejar varias muestras en una sola jornada de trabajo, sin embargo es requisito indispensable que las muestras sanguíneas de los animales, sean frescas, ya que muestras de 24 ó más horas revelan que han disminuido un gran número de leucocitos viables. Se sugiere que se investiguen técnicas para conservación de los leucocitos viables durante más de 24 horas.

C O N C L U S I O N E S

La interpretación de los resultados a la prueba de potencia en el control de vacunas contra la IBF, se basa en la observación de las lesiones macroscópicas producidas por el virus virulento, proporcionando resultados variables de un laboratorio a otro, inclusive de un observador a otro.

La prueba del FIM es una técnica para determinar inmunidad celular y puede complementar a la prueba de potencia en el control de vacunas contra la IBF, siendo muy sensible, específica y fácil de cuantificar.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Anzures K. C. M. Estudio bibliográfico sobre la infección de la Bolsa de Fabricio. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. (1977).
- 2.- Biester E., Schwarte L.H. Diseases of poultry. The Iowa State University Press Ames, Iowa U.S.A. (1962)
- 3.- Benton W. J., Coner M. S. and Rosenberger J. K. Studies on the transmission of the infectious bursal agent (IBA) of chickens. Av. Dis. 11: (3) 430-438 (1967).
- 4.- Bordier L, D.D. El método de inhibición de la migración de macrófagos para detectar inmunidad celular en la rinotraqueítis infecciosa bovina. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. (1980)
- 5.- Boyce B. and Barry R. Floom. Biological activity purified migration inhibitory factor (MIF) associate with delayed-type hypersensitivity. Federation Proceedings. 263: 2 (1968).
- 6.- Cosgrove A. S. An apparently new diseases of chickens-avian nephrosis. Av. Dis 1 : 3 (1962)
- 7.- Charles N.L.M. Análisis de los casos clínicos presentados en el Departamento de Producción Animal: Aves, durante los años 1972-1975. Tesis de Licenciatura Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. (1977)

- 8.- Cho Y. and Edgar S.A. Characterization of the infectious bursal agent.
Poul. 48: 2102-2109 (1969)
- 9.- David J. R., S. Askari, H.S. Lautence and L. Thomas.
The specificity of inhibition of cell migration
by antigens. Jour. Immunology 93: 264-272 (1964).
- 10.- David J. R. Macrophage migration. Federation proceedings
27: (1) 13-15 (1968).
- 11.- David J. R. Migration inhibitory factor and mediators of cell
hipersensitivity in vitro progress immunology. Ed.
Bernard Amos, Frist International Congress of aca-
deme Press pag. 399-412 (1974).
- 12.- Dirección General de Sanidad Animal. Protocolo de requerimientos míni-
mos de control de calidad de biológicos para uso Ve-
terinario. S/A.R.H. México, D.F. (1980)
- 13.- Faragher J. T. Infectius bursal diseases of chickens.
Vet. Bull. 42 : (6) 361-369 (1972).
- 14.- Faragher J. T. Immunosuppressive affect of infectioús
bursal agent on vaccination against
Newcastle disease. Vet. Rec. 95 : 385-388
(1974)
- 15.- Giambrone J. J. , Fidson C. S. , Fletcher B. O. , Page O.J.
Rarger B. O. and Kleven S. H. Effect of
Infectious bursal agent on the response
of chickens to Newcastle disease.
Av. Dis. 20: (3) 534-544 (1976).

- 16.- Giambone J.J., Donahoe J. P. Dawe D.L. and Tidson C. S.
Specific suppression of the bursal dependent
immune system of chickens with infectious bursal
disease virus.
Am. J. Vet. Res. 38: (9) 581-583 (1977).
- 17.- Glick R. Normal Growth of the bursal of Fabricius in chickens.
Poul. Sci. 35: 843-851 (1956)
- 18.- Helmboldt C.F. and Garner F. Experimentally induced Gumboro disease
(IBA). Av. Dis. 8 : 561-575 (1964).
- 19.- Hirai K., Shimakura S., Kawamoto E., Taguchi F., Kim S. T. and Chang
C. N. . The immunodepressive effect of infec-
tious bursal disease . Virus In chickens .
Av. Dis, 18 : (1) 50-57 (1974),
- 20.- Hitcher S.B. Infectivity of infectious bursal disease virus for
embryonating eggs.
Poul Sce. 49: 511-516 (1970)
- 21.- Herbert W. J. Veterinary immunology. Blackwell Scientific Publi-
cations Londres. (1974)
- 22.- Hofstand M. S. Diseases of poultry . 6 the Iowa .State
University Press pag. 760-768 (1972)
- 23.- López C.C. Análisis estadístico de los casos clínicos presentados
en el Departamento de producción Animal: Aves
1968-1971. Tesis de licenciatura
Fac. de Med. Vet. y zoot. Universidad Nacional
Autónoma de México. D. F. (1977)

- 24.- López E. M. E. Estudio comparativo entre la prueba intradérmica y pruebas de MIF para detección de tuberculosis en el ganado bovino. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México D.F. (1978).
- 25.- Lukert P. D. and Davis R.B., Infectious bursal disease virus: Growth and characterization in cell cultures. Av. Dis. 18: (2) 243-249 (1974)
- 26.- Morita C., T. Okada H. Izawa and M. Soekawa. Agarose droplet method of macrophage migration inhibition test for Newcastle disease virus in chickens. Av. Dis 20: 2 (1975).
- 27.- Nulty, Allan G. Isolation of infectious bursal diseases virus in Turkeys. Av. Pathology 8: (3) 205-212 (1979).
- 28.- Parkhurst R. T. On the farm studies of Gumboro Disease in broilers. Av. Dis 8 : 584-596 (1964).
- 29.- Rosenberger J. K. and Gelb J. Immunosuppressive effects of the infectious bursal agent and relationships to other poultry diseases. Reprinted from United States Animal Health Association 80 th annual meeting. Miami Beach Florida (1976)
- 30.- Saldivar Z. E. Determinación de la inmunidad celular en aves vacunadas contra la enfermedad de Newcastle por medio de la prueba de MIF. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. (1980)

- 31.- Tizart I. R. Veterinary Immunology. Saunder Philadelphia
London (1977).
- 32.- Thor E.D. Human delayed hipersensitivity: An in vitro correlate
and transfer by an RNA extract. Federation
Proceedings 1: 1 (1968).
- 33.- Tron F. M. J. La prueba de MIF para el diagnóstico de bruce-
losis porcina. Tésis de licenciatura.
Fac.de Med. Vet. y Zoot. . Universidad Nacio-
nal Autónoma de México, D. F. (1980)
- 34.- Valdés L. L. E., Lucio M. E. y Antillón R. A. Estudio Clínico
patológico y por inmunofluorescencia de la
Infección de la Bolsa de Fabricio. Rev.Vet.
Mex. 2: 3 (1971)
- 35.- Yachida S. and Iritani Y. Plaque Reduction neutralization test
for the serodiagnosis of infectious bursal di-
sease.
J. Vet. Sci. 39: 1-5 (1977).

