

01621  
13



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

EVALUACION DE LOS SIGNOS CLINICOS Y LESIONES INDUCIDAS POR LA CEPA OGVP DEL VIRUS DE LA INFECCION DE LA BOLSA DE FABRICIO EN POLLOS DE ENGORDA Y LIBRES DE PATOGENOS ESPECIFICOS.

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**P R E S E N T A :**

**INKAR ALEJANDRO CASTELLANOS HUERTA**

ASESORES: M.V.Z. E.D.P.V. M.C. VICTOR MANUEL PETRONE GARCIA  
M.V.Z. M.C. XOCHITL HERNANDEZ VELASCO



MEXICO, D. F.

2003

a



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.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la  
UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el  
contenido de mi trabajo intelectual.  
NOMBRE: Inkar Alejandro  
Castellanos Huerta  
FECHA: 14/10/05  
FIRMA: Inkar Alejandro

## TÍTULO

**EVALUACIÓN DE LOS SIGNOS CLÍNICOS Y LESIONES  
INDUCIDAS POR LA CEPA OGVP DEL VIRUS DE LA  
INFECCIÓN DE LA BOLSA DE FABRICIO EN POLLOS DE  
ENGORDA Y LIBRES DE PATÓGENOS ESPECÍFICOS.**

## DEDICATORIA

*A mi padre y a mi madre, que siempre están presentes y cuento con todo su apoyo, y quienes siempre me han enseñado a no darme por vencido y hacer siempre lo correcto.*

*A mi hermano y familia, mi amor por siempre.*

*A mi abuela rosita y a mi abuela maura.*

*A mi tía gloria y familia.*

*A mis amigos Job, Melisa, Adriana, Bernardo, Bibiana, Jessica, Andrés, Sandra, Alberto, Patricia, Daniel, Martha, Teresa D, Emiliano, Iker, Emmanuel, Eduardo, Itzo, Rocio, Laura y Varón.*

*A Jesucristo nuestro señor:*

*"lo llevó afuera, y le dijo: Ahora mira el cielo y cuenta las estrellas, si te es posible contarlas. Y le dijo: Así será tu descendencia."*

*Génesis 15:5*

*"La Biblia".*

## AGRADECIMIENTOS

*A dios, tu luz y amor, están siempre conmigo.*

*A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y sus académicos, por mi formación profesional.*

*A mis asesores MVZ Víctor Manuel Petrone García y MVZ Xóchitl Hernández por su apoyo, sus conocimientos y por brindarme la oportunidad de realizar este trabajo.*

*A los miembros del jurado MV Tamas Fehervari, MVZ Gabriela Gómez Verduzco, MVZ María de la Luz Charles Noriega, MVZ Beatriz Vanda Cantón y MVZ Víctor Manuel Petrone García por su valiosa orientación en el presente trabajo.*

*Al programa de alta exigencia académica y al PROBETEL por su apoyo a lo largo de la carrera y en la realización de este trabajo.*

*Al laboratorio investigación aplicada S.A. y al MVZ Oscar García Vera por los apoyos brindados para la realización del trabajo.*

*A los MVZ Tamas Fehervari, MVZ Gabriela Gómez Verduzco y MVZ Beatriz Vanda Cantón por su apoyo y confianza.*

*A mis amigos Juan Carlos B., Juan Carlos R., Mireya J. y Rocio R., que sin su ayuda y apoyo no hubiese sido posible realizar este trabajo.*

*A mis amigos Cristian C., Daniel O., Teresa O., Guillermo G., Briseida C., Ruth T., Lidia G., Javier C., Mónica A., Mónica H., Marcelo P., Sandra G., Lidia A., Esmeralda C., Mireya O., Ivonne P., Ulises R., Armando E., José G., Elizabeth A., Natanael M., Sr. Rodrigo por su amistad y apoyo.*

*A los académicos del DPA: Aves, MVZ Tamas Fehervari B., MVZ María de Luz Charles N., MVZ Gabriela Gómez Verduzco, MVZ Víctor Manuel Petrone García, MVZ Rubén Merino, MVZ Magdalena Escorcía, MVZ Marco Juárez, MVZ Cecilia Suárez, MVZ Odette Urquiza, MVZ José A. Quintana, MVZ Reynaldo Moreno, MVZ Néstor Ledesma, MVZ Teresa Casaubón, MVZ Carlos López Coello.*

## CONTENIDO

### Página

TITULO.....	I
DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CONTENIDO.....	IV
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.....	V
ABREVIATURAS.....	VI
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
JUSTIFICACIÓN.....	18
HIPÓTESIS.....	19
OBJETIVOS.....	19
MATERIAL Y MÉTODOS.....	19
RESULTADOS.....	25
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.....	29
LITERATURA CITADA.....	35
CUADROS.....	46
FIGURAS.....	47

## LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

	Página 46
<b>CUADRO 1.</b> Diseño de tratamientos.	
	Página 47
<b>FIGURA 1.</b> Patogénesis de la infección de la bolsa de Fabricio.	
	Página 48
<b>FIGURA 2.</b> Activación de la apoptosis por virus y algunas de sus vías más importantes.	
	Página 49
<b>FIGURA 3.</b> Secuencia de eventos morfológicos en necrosis y apoptosis.	
	Página 50
<b>FIGURA 4.</b> Índice bursal.	
	Página 52
<b>FIGURA 5.</b> Índice tímico.	
	Página 54
<b>FIGURA 6.</b> Porcentaje de tejido linfoide en folias bursales.	
	Página 56
<b>FIGURA 7.</b> Cuerpos en apoptosis en folículos bursales.	
	Página 58
<b>FIGURA 8.</b> Porcentaje de CCM en folículos bursales.	
	Página 60
<b>FIGURA 9.</b> Apoptosis en corteza tímica.	

## LISTAS DE ABREVIATURAS

❖ <b>IBF</b>	Infección de la bolsa de Fabricio.
❖ <b>VIBF</b>	Virus de la infección de la bolsa de Fabricio.
❖ <b>LB-IgM</b>	Linfocitos B con IgM monomérica en membrana.
❖ <b>BC</b>	Bolsa cloacal.
❖ <b>CCM</b>	Células corticomedulares.
❖ <b>AeM</b>	Anticuerpos monoclonales.
❖ <b>PBS</b>	Solución salina amortiguada con fosfatos.
❖ <b>IFN-<math>\gamma</math></b>	Interferón gamma.
❖ <b>IL-2</b>	Interleucina tipo 2.
❖ <b>HE</b>	Hematoxilina eosina.
❖ <b>TC</b>	Tonsilas cecales.
❖ <b>LB</b>	Linfocitos B.
❖ <b>LT</b>	Linfocitos T.
❖ <b>PI</b>	Postinoculación.
❖ <b>ENC</b>	Enfermedad de Newcastle.
❖ <b>EM</b>	Enfermedad de Marek.
❖ <b>ARN</b>	Ácido ribonucleico.
❖ <b>VP</b>	Proteína viral.
❖ <b>FB</b>	Folículo bursal.
❖ <b>FAE</b>	Células epiteliales foliculares asociadas.
❖ <b>DIA</b>	Área de infiltración linfoide.
❖ <b>IM</b>	Inmunidad materna.



## RESUMEN

CASTELLANOS HUERTA INKAR ALEJANDRO. Evaluación de los signos clínicos y lesiones inducidas por el virus de la infección de la bolsa de Fabricio en pollos de engorda y libres de patógenos específicos. (bajo la dirección de MVZ EDPV MC Víctor Manuel Petrone García y MVZ MC Xóchitl Hernández Velasco).

La infección de la bolsa de Fabricio (IBF) (enfermedad de Gumboro, enfermedad infecciosa de la bolsa), es una enfermedad causada por el virus de la infección de la bolsa de Fabricio (VIBF) que produce daño en los linfocitos B con moléculas IgM monoméricas como receptor de membrana (LB-IgM) en la bolsa cloacal (BC), y en menor grado linfocitos T (LT) en timos; además de causar apoptosis en LB y LT, lo cual resulta en una inmunodepresión local y sistémica de las aves. La IBF en pollos de menos de 2 semanas de edad provoca una inmunodepresión severa sin signos clínicos de la enfermedad; en pollos de 3 a 6 semanas de edad se observa inmunodepresión, signos clínicos de la enfermedad y lesiones en BC y otros órganos; a mayor edad las aves se consideran refractarias a la enfermedad. Existe dos serotipos conocidos del VIBF: el serotipo 1 y 2 con una mínima protección cruzada; solo el serotipo 1 es patógeno para los pollos. Las cepas del serotipo 1 de IBF presentan variaciones en su virulencia entre ellas; cepas altamente virulentas que causan signología clínica y muerte, con daño severo en BC, timo, bazo y médula ósea; cepas de virulencia moderada con escasa o nula mortalidad y daño severo en BC; cepas de baja virulencia que inducen daño sólo en BC y cepas variantes de baja a moderada virulencia altamente inmunodepresoras, que cursan sin signología clínica. En 2001 en una granja de pollo de engorda de la región del altiplano mexicano se realizó la identificación de la cepa OGVP, mediante anticuerpos monoclonales (AcM) por medio de ELISA de captura, se identificó la presencia del antígeno superficial #8 y la ausencia de los B69, R63 y #10 que se encuentran en las cepas convencionales. El presente estudio tuvo como objetivo el describir los hallazgos macroscópicos a la necropsia y la evaluación de lesiones histológicas de BC y timos de aves libres de patógenos específicos y pollos de engorda de 15 días de edad. Los resultados indican una mayor respuesta inflamatoria a la infección por la cepa convencional Edgar debido a la necrosis y a la liberación de mediadores de la inflamación; a diferencia de la cepa variante OGVP, en la que el efecto principal de la replicación viral es el incremento de la apoptosis en BC y timos, reduciendo la reacción inflamatoria y causando sólo una atrofia bursal.

## INTRODUCCIÓN

La infección de la bolsa de Fabricio (IBF), "enfermedad de Gumboro" ó "enfermedad infecciosa de la bolsa",<sup>1-3</sup> es una enfermedad aguda causada por el virus de la infección de la bolsa de Fabricio (VIBF).<sup>4</sup> La IBF fue reconocida por primera vez por Cosgrove A. S.<sup>5</sup> en el año de 1957 en una granja de pollos cerca de la comunidad de Gumboro, Delaware EUA e informada en 1962.<sup>1, 4, 5</sup> El nombre infección de la bolsa se empleó por primera vez en una publicación de Allan Edgar en 1966, el cual menciona el aspecto macroscópico de la bolsa cloacal (BC) (bolsa de Fabricio); en febrero del mismo año, en la 10<sup>o</sup> Annual Poultry Health and Management Short Course en la universidad de Clemson, Carolina del Sur EUA, se decide aceptar la nomenclatura empleada por Edgar SA.<sup>3, 6</sup> Hitchner al describir las lesiones en BC propone como nombre "enfermedad infecciosa de la bolsa".<sup>3, 4, 5</sup> En México los primeros casos semejantes al síndrome "nefrosis-nefritis" aviar fueron descritos en el año de 1965<sup>7</sup> y para 1969 Correa GP describe la signología, lesiones macroscópicas e histología de BC, timo, bazo e hígado de la IBF en pollos de 6 semanas.<sup>8</sup> En 1971 se describen por medio de inmunofluorescencia la distribución de la cepa convencional conocida como 2512 (Winterfield 2512) del VIBF, en órganos linfoides como BC, tonsilas cecales (TC), timo, bazo, médula ósea, en aparato digestivo y sistema nervioso<sup>9</sup> y en 1972 se describe por primera vez la patogenia de la enfermedad.<sup>2, 3</sup>

En 1967, Normal Cheville<sup>10</sup> evaluó el efecto de la cepa Edgar del VIBF (Cepa Edgar) en linfocitos de BC, timos y bazos, informó necrosis en la BC, y en menor grado en timos y bazo, cromatina condensada en núcleos de linfocitos B (LB) de la BC, que sugieren apoptosis; reportó macrófagos con partículas virales en citoplasmas, describió actividad fagocítica de los macrófagos, células plasmáticas y del tejido conectivo

interfolicular, proliferación de células corticomedulares, aumento de heterófilos en BC y fibroplasia en la recuperación del tejido conectivo interfolicular bursal. Observó aumento del peso de la BC los días 2, 3 y 4 postinoculación (PI) y la drástica reducción de este los días 5 y 6 PI.<sup>10</sup> Por su parte, Young Cho y Allen Edgar en 1962 describen la signología clínica, lesiones macroscópicas en BC y en células sanguíneas circulantes de pollos inoculados con la cepa Edgar.<sup>11</sup> reportaron depresión moderada de las aves desde el día 2 hasta el día 4 PI debido a la viremia y al aumento de la temperatura corporal a más de 40 °C, aumento el día 1 PI de los linfocitos circulantes y una reducción el día 2 PI; a la necropsia las BC aumentaron de tamaño y peso a los 2 días PI y se observaron en atrofia desde el día 4 PI.<sup>12</sup> Una de las primeras vacunas fue originada a partir de la cepa Edgar,<sup>13</sup> sin embargo, ésta no fue autorizada para su uso en la avicultura.<sup>3</sup> Para la década de 1970, Phil Lucker, Joan Leonard y Richard Davis<sup>13</sup> en la universidad de Georgia EUA, adaptaron la cepa Edgar a varios sistemas de cultivo celular como células bursales, renales y células Vero, para la elaboración de vacunas, y en 1973 Lucker adaptó con éxito la cepa a fibroblastos de embrión de pollo, la cual es usada en la elaboración de vacunas y pruebas de laboratorio y se le conoce como cepa Lucker.<sup>3</sup>

La IBF produce como principal efecto necrosis de LB en división de la BC con moléculas IgM monomérica como receptor de membrana (LB-IgM),<sup>14, 15, 16</sup> y en menor grado linfocitos T (LT) en timos.<sup>17</sup> La IBF causa apoptosis en LB y LT,<sup>17, 18, 19</sup> y lisis a nivel circulatorio de linfocitos sanguíneos periféricos,<sup>20</sup> a pesar de que no son capaces de replicar al virus.<sup>21</sup> Otros órganos afectados son hígado, proventrículo, riñón y TC,<sup>9</sup> causando una inmunodepresión local y sistémica.<sup>4, 22, 23</sup> esto a su vez, se refleja en un aumento en la predisposición a enfermedades secundarias

como dermatitis gangrenosa, coriza infecciosa, enfermedad de Marek (EM), hepatitis con cuerpos de inclusión, salmonelosis, coccidiosis, infecciones por *E. coli*, entre otras, así como respuestas deficientes a la vacunación como enfermedad de Newcastle (ENC) o EM.<sup>4, 5</sup> Pruebas con antígenos como *Brucella abortus* y glóbulos rojos de ovino,<sup>22</sup> de muestran que las aves expuestas al VIBF presentan una respuesta inmune local y sistémica menos eficiente que las aves sanas de la misma edad.

El VIBF ha sido incluido en otras familias virales (picornaviridae y reoviridae), pero por sus características, el VIBF es clasificado en su propia familia taxonómica Birnaviridae. El virión del Birnavirus es desnudo, posee una cápside proteica simple con simetría icosaédrica, de 55 a 60 nm de diámetro, no hemoaglutina glóbulos rojos de aves ni de mamíferos y su densidad en cloruro de Cesio se reporta entre 1.32 a 1.33 g/ml,<sup>5, 24</sup> es muy estable en el ambiente y resistente a la inactivación con tratamientos ácidos (estable hasta en un pH de 2), éter, cloroformo, varios desinfectantes como cloratos, yodatos, aldehídos, fenoles, cuaternarios de amonio y mezclas, al calor resiste a 56 °C por 5 horas ó a 60 °C por 30 minutos.<sup>24</sup> El VIBF se inactiva en un pH 12 y al ser expuesto a 70° C por 30 minutos. El VIBF resiste hasta por 122 días después de retirar a las aves infectadas en la nave o galpón, en el alimento y agua contaminada y en las heces permanece activo por lo menos 52 días,<sup>5</sup> al igual que los virus de campo, los virus vacunales son lo bastante resistentes y persisten en las instalaciones transmitiéndose de parvada a parvada.<sup>25, 26</sup>

El genoma del birnavirus consiste de ácido nucleico dividido en dos segmentos (A y B) de doble hebra de ácido ribonucleico (ARN), de un peso molecular de  $2.5 \times 10^6$  y  $2.2 \times 10^6$  respectivamente, lo que representa 9.7 % del peso de la partícula viral total<sup>5</sup>. Debido a los

segmentos A y B, el VIBF se clasifica en la familia Birnaviridae la cual comprende tres géneros y uno no determinado: *Avibirnavirus* (aves) donde se incluye VIBF, *aquabirnavirus* (peces) el cual incluye al virus de la infección de la necrosis pancreática y *entomobirnavirus* que incluye al virus de la drosófila X (insectos), la clasificación de los *picobirnavirus*, los cuales corresponden en todo menos en tamaño (35 nm) a los birnavirus, no ha sido bien estudiada. <sup>21, 24</sup>

El segmento más largo A (3.2 kb) codifica para un precursor proteico de 110 kDa el cual es procesado en proteínas virales (VP por sus siglas en inglés) denominadas VP2, VP3 y VP4. La VP4 interviene como proteasa viral para el precursor proteínico. <sup>27, 28</sup> La VP2 constituye la cápside externa y representa el sitio de neutralización con anticuerpos, como el inmunógeno protector del hospedador es el responsable de las variaciones antigénicas, <sup>21, 27-29</sup> adaptación al tejido celular de cultivo, <sup>30</sup> así como de la virulencia <sup>31</sup> y patogenicidad. <sup>32</sup> La VP3, parte integral de la cápside interior, actúa como antígeno específico de grupo e interactúa con la VP1 formando parte integral en la morfogénesis de las partículas virales. <sup>28, 33</sup> Además de esto, el segmento A se encarga de codificar la síntesis de una proteína viral no estructural (NE) de 17 kDa, la cual se encuentra en todas las cepas del serotipo I del VIBF, con un 95 % de similitud entre ellas. <sup>33</sup>

La VP5 o proteína NE de 17 kDa, está presente en el virión y sólo se detecta en células infectadas con VIBF por lo que no es una proteína estructural, ésta incluso se localiza en otros birnavirus. <sup>34</sup> Reporta Neterborn que es posible encontrar análogo de la VP5 con una función similar en virus como el de la anemia infecciosa en pollos. <sup>35</sup> De acuerdo con Kun Yao en 1998 reconoce que la VP5 o proteína NE de 17 kDa no es necesaria para la replicación y no altera la respuesta humoral de las aves

expuestas, pero si interfiere en los efectos citotóxicos y a las lesiones a nivel de BC. <sup>34</sup> Estudios demuestran que tanto la proteína NE de 17 kDa y la VP2 causan apoptosis, favoreciendo la patogénesis de la enfermedad, <sup>18, 33</sup> y contribuyendo al efecto de inmunosupresión del virus. <sup>33, 36</sup>

El segmento B (2.8 kb) codifica para la VP1, una proteína ARN-dependiente multifuncional de 97 kDa con actividad enzimática como ARN-polimerasa y como proteína interior asociada en la parte final de ambos segmentos de ARN (A y B), debido a sus funciones es la enzima responsable de la replicación viral en las células infectadas. <sup>27, 28, 36</sup>

Se conocen dos serotipos del VIBF, el serotipo 1 y el serotipo 2, los cuales tienen mínima protección cruzada. <sup>27</sup> Sólo el serotipo 1 es patógeno para los pollos, el serotipo 2 ha sido aislado a partir de muestras de pavos, <sup>3, 21</sup> sin embargo, ambos serotipos (1 y 2) pueden encontrarse en pollos y pavos. <sup>37, 38</sup> Ismail (1988) reportó 5 cepas del serotipo 2 del VIBF que provocaron la infección, al mostrar en los pollos una respuesta humoral, sin signos de enfermedad, ni lesiones a la necropsia o a la evaluación histológica de BC y timos y la proporción del peso de BC con el peso corporal no se afectó, lo cual demostró la falta de patogenicidad en pollos del serotipo 2; <sup>39</sup> ambos serotipos presentan curvas de crecimiento similares del virus en cultivo celular, con

diferencias en los títulos virales y en los pesos moleculares del ARN a la prueba de electroforesis a las 30 y 40 horas. Al comparar las proteínas estructurales se demostró que las diferencias radican en la falta de VP2 en el serotipo 2 y diferencias en los pesos moleculares de las VP3 y VP4 entre serotipos. <sup>40</sup>

Las cepas del serotipo 1 de IBF presentan variaciones en la virulencia, antigenicidad y patogenicidad entre ellas, de acuerdo con estos datos, es posible clasificar a las cepas en: cepas altamente virulentas que inducen

signos clínicos severos seguidos de muerte, con daño severo en BC, timo, bazo y médula ósea; cepas de virulencia moderada que producen escasa o nula mortalidad e inducen daño severo en BC; cepas de baja virulencia o atenuadas, las cuales inducen daño solo en BC y las cepas variantes del VIBF que pueden ser de baja a moderada virulencia altamente inmunodepresoras, pero no inducen signos clínicos en los pollos. <sup>41</sup> En el caso de las cepas clasificadas como convencionales es posible observar como principal efecto de la replicación viral necrosis en el tejido de la BC y en menor grado en los timos y bazo. <sup>42</sup> Mediante un estudio con una cepa convencional designada como IM-IBDV y la cepa variante designada como VA-IBDV, Sharma informó que ambas cepas provocaron depresión en la inmunidad humoral y mitogénica, lesiones macroscópicas y microscópicas en BC, sin embargo, la necrosis de la cepa IM-IBDV estaba acompañada de una respuesta inflamatoria mientras que el componente inflamatorio estaba ausente en la lesión inducida por la cepa VA-IBDV. Además, la cepa IM-IBDV indujo lesiones extensas en el timo mientras que la VA-IBDV no produjo lesiones. <sup>43</sup> La ausencia de una respuesta inflamatoria es atribuida a la apoptosis inducida por el virus. <sup>44</sup>

El VIBF es endémico en varias partes del mundo, la oficina internacional de epizootias estima que la IBF se encuentra en más del 95 % de los países miembros. <sup>45</sup> La presentación de cepas variantes a nivel de campo ha sido reportada a partir de la década de 1980 en Estados Unidos, además de Canadá, Centro América, América del Sur, Europa y Asia. <sup>27, 41, 45, 46, 47, 48</sup> La identificación de las cepas variantes del serotipo I se realiza mediante aislamiento de los virus de campo y pruebas virus-suero neutralización. <sup>48</sup> retos a la vacunación y pruebas de ELISA de captura de antígeno usando anticuerpos monoclonales. <sup>25, 49, 52</sup> Otras pruebas desarrolladas para la identificación de la variabilidad genética de los

VIBF son los ensayos mediante la prueba Transcriptasa Reversa/ Reacción en Cadena de la Polimerasa-Determinación del polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RT/PCR-RFLP por sus siglas en inglés).<sup>45</sup>

En el año 2001, en una granja de pollo de engorda ubicada en la región del altiplano mexicano se realizó el aislamiento y la posterior identificación de las características antigénicas de la cepa OGVP; mediante el uso de anticuerpos monoclonales (AcM) se determinó que la cepa OGVP reacciona con el AcM # 8 y no con los AcM's B69, R63 y # 10 por medio de la prueba de ELISA de captura de antígeno;<sup>50</sup> debido a que las cepas convencionales son positivas a estos cuatro AcM's, la cepa OGVP se consideró como una cepa variante.<sup>51, 52</sup>

Los pollos susceptibles a presentar clínicamente la IBF se encuentran entre el rango de 3 hasta 6 semanas,<sup>4, 5</sup> en pollos de menos de 2 semanas se observa una inmunodepresión permanente, sin signos clínicos.<sup>28</sup> Los signos clínicos como picoteo de la cloaca, depresión, diarrea blanca, deshidratación e incoordinación,<sup>4, 9</sup> se hacen menos aparentes conforme avanza la edad, al igual que las lesiones en órganos, haciendo más difícil la detección de la enfermedad. Según reporta Tsukamoto, para que ocurran las manifestaciones clínicas de la enfermedad es necesaria la replicación eficiente del virus no solamente en BC, sino también en el bazo y médula ósea.<sup>33</sup> Fadly AM reporta que pollos inoculados a las 5 semanas con VIBF son más susceptibles a presentar signos clínicos en comparación con pollos de I y de II semanas de edad.<sup>42</sup> Conforme avanza la edad, las aves se consideran refractarias a la IBF,<sup>23</sup> debido a que concuerda con la atrofia fisiológica de la BC. El crecimiento más rápido de la BC se observa entre la semana 3 y 5 de edad, cuando los LB son liberados al torrente sanguíneo y llegan a tejidos periféricos



resultando en una población LB dependientes en el bazo, médula ósea, tonsilas cecales y otros tejidos linfoides, <sup>5</sup> alcanza su mayor tamaño aproximadamente entre la semana 8 y 12 de edad y en la mayoría de los pollos la regresión de la BC se observa entre la semana 20 y 24 de edad, cuando el peso de la BC representa un 11 % del peso de la BC a la semana 8 de edad. Algunos cambios observables a nivel microscópico son la formación de quistes medulares e hiperplasia de las células epiteliales del estroma bursal a las 17 semanas de edad. <sup>54</sup> Factores como ambiente, enfermedad y estirpe modifican estos intervalos <sup>5</sup>, pero la regresión fisiológica de la BC está relacionada a la madurez sexual. <sup>54</sup> sin embargo, existen reportes de gallinas de más de 14 semanas de edad que presentaron signos de la enfermedad. <sup>55</sup>

Debido a que los LB-IgM en división de la BC son el principal blanco para la replicación viral del VIBF, <sup>56</sup> éstos son indispensables para la patogénesis de la infección; variaciones en el número de las células bursales se refleja en una reducción de hasta 1000 veces menor la cantidad de virus replicado en otros órganos como el timo, hígado y bazo. <sup>57</sup> En aves bursectomizadas quirúrgicamente, <sup>58</sup> ó inmunodeprimidas por medio de fármacos (ciclofosfamida), la IBF se reduce en severidad y favorece que los anticuerpos presentes bloqueen al VIBF al iniciar la infección. <sup>5</sup> <sup>58</sup> esto se observó en aves en las que se eliminó por completo la población linfoide bursal o la cantidad de células bursales fue modificada, lo que sugiere que la disponibilidad de una gran cantidad de células de la BC es un factor esencial para el desarrollo de la enfermedad. <sup>57</sup> <sup>58</sup>

La vía oral es la principal forma natural de la infección, otras vías son la vía respiratoria y conjuntiva. <sup>4</sup> <sup>5</sup> El periodo de incubación es de 2 a 3 días PI. <sup>4</sup> El virus puede ser detectado en macrófagos y linfocitos en TC

4 horas PI y 5 horas PI (primera viremia) en macrófagos y linfocitos en el duodeno, yeyuno y macrófagos tisulares en hígado, en 11 horas PI en el citoplasma de las células tubulares epiteliales del riñón. <sup>4, 5</sup> por medio de la circulación sanguínea se distribuye a otros órganos incluidos la BC, a pesar que la infección por medio de la unión de la BC con el tracto digestivo no puede ser descartada. Existe una replicación viral masiva y una reacción inflamatoria severa a las 11 horas PI a nivel de BC; los macrófagos ubicados en el tejido conectivo interfolicular y en la zona límite entre la corteza y médula son las células infectadas. <sup>6</sup> A las 13 horas PI es posible detectar más folículos afectados por medio de fluorescencia. A las 16 horas PI el antígeno está presente en epitelio y en áreas subepiteliales de los folículos, esto conduce a una segunda y pronunciada viremia y una replicación en otros órganos. Los LB-IgM de la BC son los más afectados a los 2 o 3 días PI mientras que los LB con IgG como parte integral de la membrana celular (LB-IgG) se reducen a los 4 días PI. <sup>7</sup> Reportes indican que en aves bursectomizadas desde embriones, al ser infectadas presentan VIBF detectable en timos a los 18 días PI, pero no se determinó en donde se replica el virus en ausencia de la BC. <sup>8, 9</sup> figura 1. El estado de inmunodepresión inducido depende entre otros factores del título de anticuerpos en el caso de inmunidad materna (IM) o de calendario de vacunaciones contra VIBF durante producción, el tipo de cepa que se encuentre en brote o la región y edad al momento de la infección. <sup>10, 11</sup>

Lam KM reporta cambios en corazón en pollos inoculados con una cepa convencional, los cuales incluyen edema, desorganización de las miofibrillas y apariencia borrosa de las bandas Z. <sup>12</sup> En algunos brotes se observa necrosis y hemorragias a nivel renal, hemorragias en músculos pectorales y en muslos. <sup>13, 14</sup> además de hemorragias en mucosa del

proventrículo, cuya causa probable son trastornos en la coagulación. <sup>4, 5</sup>

<sup>61</sup> Estudios demuestran que las hemorragias son inducidas por trastornos en la coagulación <sup>42</sup> y por la formación de complejos inmunes (antígeno-anticuerpo complemento) <sup>62</sup> inducidos por la infección por VIBF, ya que los hallazgos histológicos en BC se relacionan con una reacción tipo Arthus, caracterizada por necrosis, hemorragia y un gran número de heterófilos; <sup>63, 64</sup> debido a que los complejos inmunes son factores quimioestáticos provocan hemorragias y un infiltrado de leucocitos en diversos órganos. <sup>5</sup> El aumento de complejos inmunes en el sitio de replicación viral y las alteraciones en el tiempo de coagulación provocados por el VIBF, causan lesiones en los endotelios vasculares, induciendo lesiones hemorrágicas, signos clínicos y muerte; estudios demuestran que en pollos de 2 semanas de edad los niveles sanguíneos del complemento son inferiores a los de las aves de 8 semanas, a pesar de que la producción de anticuerpos es similar. <sup>4, 62, 64</sup> Las lesiones a nivel renal, según demuestra Ley, son atribuidas a la acumulación de complejos inmunes a nivel de glomérulo <sup>61</sup> y a la replicación viral. <sup>4, 5</sup> Figura 1.

La BC es un órgano linfoide propio de las aves, se puede observar claramente en el pollo, pavo, ganso y pato, en el caso del avestruz forma parte de la pared dorso lateral de la parte caudal del proctodeo. <sup>44, 65</sup> En el pollo, la BC aparece como un divertículo mediodorsal del proctodeo de un tamaño aproximado de 3 cm de largo, 2 cm de ancho y 1 cm dorsoventral, <sup>66</sup> consta de una pared que rodea una cavidad principal axial y se conecta a la cloaca por un conducto que desemboca en el proctodeo. La mucosa de la BC contiene de 12 a 15 pliegues longitudinales o plicas primarias y 7 plicas secundarias, cada folia contiene en su interior aproximadamente 800 folículos bursales (FB) por folia, rodeados por un tejido conectivo estructural. <sup>65</sup> La folia se

encuentra rodeada por un epitelio cilíndrico, que a nivel del ápice de la folia éste reduce su altura y se le conoce como tuft, con actividad pinocítica lo que permite la entrada de sustancias solubles desde el lumen hasta la médula bursal. <sup>44</sup> este tipo de células epiteliales folículo-asociadas (FAE por sus siglas en inglés), corresponden al 10% de la superficie del lumen bursal (1 cm<sup>2</sup>). <sup>65</sup>

El FB está conformado en la parte medular por LB-IgM, <sup>65</sup> linfoblastos, reticulocitos o células retículo epiteliales, macrófagos, algunas células plasmáticas y células secretoras. En la parte cortical se localiza LB-IgM, algunos linfoblastos, células plasmáticas, un soporte membranoso y una capa simple de células epiteliales o células corticomedulares (CCM), las cuales aparentemente provienen del epitelio superficial de la folia; en aves jóvenes y sanas es usual encontrar pocas de estas células. <sup>44, 65</sup> En los FB los LB se encuentran en un porcentaje de 85 a 95% y los LT en un porcentaje de <4% y otras células no linfoides <sup>67, 68</sup> La actividad en conjunto de las células del FB es conferir protección al ave por medio de antígenos captados a través de su unión con la cloaca <sup>67</sup> y por la maduración de LB precursores de las células plasmáticas productoras de anticuerpos. Debido al contacto con el sistema digestivo, la BC posee un mecanismo de inmunidad local. <sup>67</sup>

Existen reportes que indican la presencia de LT de manera normal en la BC, en una región denominada área de infiltración difusa (DIA por sus siglas en inglés) localizada dorsalmente al conducto bursal que conecta a la bolsa con la cloaca. <sup>67, 69</sup> Potworowski en 1972 informa que los LT se encuentran en una proporción de 0 hasta 20%. <sup>70</sup> por lo tanto se infiere que esta región tienen la función de un órgano linfóide secundario o periférico (nodo linfático), los cuales comúnmente tienen una área timo-dependiente cerca de un área de LB semejante a una región timo-

dependiente en mamíferos, con una gran cantidad de fibras reticulares y venulas post capilares. " Khan en 1996 sugiere que la población de LT presentes en la BC depende de la edad, del desarrollo y atrofia de ésta, además de que la población de LT no es solo por la presencia de DIA sino depende del flujo constante de LT provenientes del timo. "67

El timo es un órgano linfoide primario que consiste en una cadena de 6 a 7 lóbulos color pálido amarillento que se localizan a cada lado del cuello a un lado de la vena yugular y el nervio vago, por lo general el último lóbulo tímico penetra en la tiroides y paratiroides. "68 su función es la proliferación, maduración y distribución a otros tejidos de LT. Alcanza su máximo desarrollo desde las 17 semanas de edad y para las 23 semanas de edad (madurez sexual) se reduce a menos de la mitad del tamaño al desaparecer la corteza. Cada lóbulo tímico se encuentra rodeado por tejido conectivo, que al invaginarse forma septos incompletos dentro del lóbulo subdividiéndolo, éste se extiende hasta unirse con la zona corticomedular. Cada lóbulo interno se compone de una medula pálida y una corteza oscura, esto debido a la diferencia en el número de linfocitos presentes en cada zona. La corteza se subdivide en una corteza interna que contiene LT pequeños, y una corteza externa que contiene linfoblastos. La irrigación converge de la zona corticomedular y regresa al mismo sitio. Se encuentran en la parte medular los centros germinativos, los cuales son difíciles de distinguir. Es posible encontrar LB sólo en la corteza y representan 5 a 20% de la población linfoide. Los LT van madurando desde la corteza hasta llegar a la medula y de ahí salen a la circulación sanguínea por las venas medulares. Es posible localizar en todo el timo macrófagos. Las células miodes (Myiod) se localizan en la parte medular del lóbulo, éstas presentan estrías en el citoplasma similar al músculo esquelético, su función es la de movilizar

fluidos internos y como fuente de antígenos propios. El intersticio del timo consiste en una red de células epiteliales, con una mayor densidad en la médula. Es innervado por nervios no mielinizados localizados en las venas y células mieloides de la médula. Se piensa que el tejido epitelial del timo tiene la capacidad de selección positiva o negativa de los timocitos.<sup>44</sup>

Hay estudios que demuestran que uno de los órganos afectados por la replicación del VIBF es el timo, se ve afectado en su relación corteza-médula, debido a la necrosis y apoptosis de los LT en corteza, reduciendo esta última. Como parte importante de la patogenia del VIBF es el reconocimiento de las células reticuloepiteliales de la médula como sitio de persistencia viral.<sup>16, 68</sup> Al momento de ser expuestas las aves al VIBF, la población de LT aumenta a medida de que se reduce la población de LB por causa de la replicación viral y de otros efectos de la respuesta en contra del virus.<sup>16</sup> Figura 1

Los LT intervienen principalmente en la inmunidad celular, son clasificados por sus funciones y por sus receptores de membrana, entre los cuales se encuentran los LT CD4 y LT CD8.<sup>71</sup> La participación de los LT durante la IBF en los pollos ha sido estudiada por varios autores.<sup>16, 20, 72</sup> Los resultados indican que los LT juegan un papel importante durante los primeros 5 días PI, ya que en su ausencia, la cantidad de virus en la BC aumenta considerablemente, además de que son responsables de inducir una respuesta inflamatoria aguda muy severa, después de los 5 días PI es posible observar en BC, retraso en la reparación del tejido bursal y la persistencia de las lesiones bursales; esto se atribuye al efecto de sustancias llamadas citosinas como el interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) y la interleucina tipo 2 (IL-2) liberadas por LT estimulados-VIBF, las cuales interactúan con otros tipos celulares como

macrófagos y los mismo LT, aumentando la respuesta inflamatoria, atrayendo a heterófilos entre otras líneas celulares y estimulando a mas LT CD8 a inducir apoptosis en las células que presentan antígenos del virus en su superficie, por medio de la interacción LT-célula, de los receptores de las células linfoides (RTC) y del complejo principal de histocompatibilidad tipo I (MHC-I); además de inducir apoptosis a células sin el antígeno viral en la superficie por medio de otros mecanismos como son los receptores del factor de necrosis tumoral (TNF) y otros estímulos celulares.<sup>72, 73, 74</sup>

La muerte celular puede llevarse a cabo mediante dos maneras, denominadas apoptosis (muerte programada, suicidio celular) y necrosis.<sup>73</sup> el término apoptosis (del griego caída de hojas) fue propuesto por Kerr J. F. en 1972,<sup>73</sup> en sustitución de necrosis reductiva o por encogimiento. Los primeros estudios fueron enfocados a descubrir las características morfológicas y la fragmentación del ADN celular y observar el proceso en el organismo.<sup>74</sup> La apoptosis se caracteriza morfológicamente por una rápida condensación de la cromatina nuclear y citoplasmática, encogimiento celular y la subsiguiente separación de los fragmentos celulares llamados cuerpos apoptóticos, los cuales consisten de fragmentos nucleares rodeados por material citoplasmático y con organelos sin alteraciones. La condensación de la cromatina se observa como un material denso alrededor de la membrana nuclear.<sup>73, 74</sup> Figura 2. Los cuerpos apoptóticos son fagocitados por macrófagos<sup>73</sup> o por las células adyacentes, que pueden ser células epiteliales o células neoplásicas, las cuales los degradan por medio de fagolisosomas. Los macrófagos son capaces de reconocer a los cuerpos apoptóticos por medio de la expresión en la superficie de la membrana citoplasmática de fosfatidilserina.<sup>76</sup> A diferencia de la necrosis, la apoptosis se

caracteriza por células individuales, encogidas de tamaño, colapsadas, con cromatina condensada y núcleo fragmentado. La membrana celular permanece intacta hasta ser fagocitada, por lo tanto el citoplasma permanece dentro de los cuerpos apoptóticos. La ausencia de inflamación durante el proceso se debe a que no existe liberación de enzimas líticas, organelos ni material celular.<sup>73, 74</sup> Figura 3.

La apoptosis puede ser inducida en procesos fisiológicos y patológicos.<sup>73</sup> es un proceso continuo y fisiológico de las células linfoides de los pollos; las células en apoptosis representa el 5.7 % aproximadamente de las células bursales durante las primeras semanas de edad<sup>11</sup>. Este proceso se observa en células durante el crecimiento, en la regresión de tejidos postnatales, en la involución fisiológica de tejidos, en algunas formas de atrofia patológica, en la eliminación de linfocitos autoreactivos y durante la regresión de hiperplasia.<sup>73</sup> Es posible observar apoptosis en neoplasias malignas y en casos de enfermedades donde la destrucción celular es inducida por la inmunidad celular. Aunado a esto, estímulos como toxinas, drogas, hipotermia, hipoxia e irradiación son inductores de la apoptosis.<sup>73, 74</sup> A diferencia de la necrosis, el proceso de apoptosis requiere de energía para llevarse al cabo, además de la activación de caspasas que son enzimas que activan a DNAsas que actúan sobre el material genético de la célula y desencadenan la llamada muerte celular programada.<sup>73, 74</sup> Los receptores que se encargan de iniciar la cadena de las caspasas son el FAS y el TNFR<sub>1</sub>, el ligando para el FAS es el receptor para el FAS y el TNF $\alpha$  liberado por los macrófagos estimulados por infecciones bacterianas o virales, se une con el TNFR<sub>1</sub>, lo cual activa a la procaspasa 8 y ésta a su vez a la caspasa 8.<sup>73, 74</sup> Figura 2.



El FAS expresado por los LT CD8 al unirse a su ligando inicia la perforación de la membrana celular de la célula blanco, por medio de perforinas, liberadas por el LT CD8, es entonces cuando es liberada la granzima B, que penetra por los poros de la membrana de la célula blanco, activando a la caspasa 10.<sup>63, 74, 77</sup> Se reconocen otros ligandos que intervienen pero su mecanismo de acción se desconoce.<sup>74</sup> Los ligando-receptores mediadores de la apoptosis no son los únicos medios de la inducción de la apoptosis: ciertos químicos, (monóxido de nitrógeno) y radiación, así como la pérdida de factores del crecimiento conforme avanza la edad, aumento del calcio intracelular, causan apoptosis por medio de la liberación de la proteína mitocondrial citocromo C (Cito C) que se localiza en la superficie externa de la membrana mitocondrial interna y en el espacio intermembranal, la cual interviene dentro del transporte de electrones durante la producción de ATP. Este al liberarse hacia el citoplasma mediante otras reacciones activa a la caspasa 9.<sup>74, 77</sup> Las caspasas 8, 9 y 10 activadas activan a la caspasa 3, la cual activa a su vez a la caspasa activadora de la DNAsa.<sup>73, 74</sup> Figura 2.

Las causas de la necrosis pueden ser varias, debido a procesos físicos o biológicos, los cuales conllevan al daño estructural o funcional mitocondrial, con la pérdida en producción de ATP y como resultado alteran la actividad de las membranas de las células.<sup>73</sup> La ruptura de estas membranas permite la liberación del citoplasma, organelos y lisosimas, al líquido extracelular, lo cual resulta en una respuesta inflamatoria.<sup>74</sup> Figura 3.

Alteraciones en la inmunidad humoral (LB) y celular (LT), debida a cambios patológicos en órganos linfoides como la BC, timo, bazo, tonsilas cecales (TC), además de hígado, riñón y corazón, tanto en la

presentación clínica como en la presentación subclínica, se reflejan en grandes pérdidas económicas, ya que causan variaciones en los parámetros productivos como: aumento de la mortalidad de un 10 hasta un 40 %, el peso promedio al rastro, la conversión alimenticia y decomisos en rastro. 4, 5, 28, 43

En la actualidad la administración de vacunas es la principal herramienta en la prevención de la IBF en la avicultura comercial, el objetivo de éstas es mantener el tejido linfóide intacto el mayor tiempo posible, obtener una depleción linfóide que demuestre la réplica de la cepa vacunal y una regresión del tejido linfóide rápida; junto con las medidas de bioseguridad, prevención de enfermedades inmunodepresión como anemia infecciosa, EM, micotoxiosis y estrés; 25, 78 la evaluación constante de la situación serológica 79 de los pollos, forman parte del correcto manejo de las parvadas.

Las cepas usadas en las vacunas dependen del estado inmunocompetente de las aves, la edad de la parvada, los anticuerpos maternos y la prevalencia de IBF en la zona donde se localiza la granja; de esta manera, la clasificación de las cepas vacunales puede ser: cepas con virus activo suaves, intermedias y calientes, según la patogenicidad de estas vacunas en los pollos y cepas inactivadas, en ambos casos es posible usar cepas convencionales y cepas variantes para su elaboración, 80 además de nuevas vacunas recombinantes las cuales utilizan proteínas virales que inducen inmunidad en las aves sin los efectos secundarios como lesiones bursales. 28

#### JUSTIFICACIÓN

Debido a que en México no se han llevado a cabo estudios sobre el comportamiento biológico, lesiones macroscópicas y hallazgos histológicos producidos por las cepas variantes de VIBF, es de

importancia relevante realizar estas descripciones, debido a la inmunodepresión inducida por el VIBF, aumentando la predisposición a otras enfermedades y al no permitir una efectiva suero-conversión en los pollos a las vacunas utilizadas en las parvadas en nuestro país.

#### HIPÓTESIS

- Los pollos convencionales y libres de patógenos específicos de 15 días de edad desafiados con la cepa OGVP del VIBF tendrán mayor índice bursal que los desafiados con la cepa Edgar.
- Los pollos convencionales y libres de patógenos específicos de 15 días de edad desafiados con cepa OGVP del VIBF tendrán menores lesiones bursales que los pollos desafiados con la cepa Edgar.

#### OBJETIVOS

- a) Describir las características biológicas de la cepa OGVP del virus de la infección de la bolsa de Fabricio en pollos de engorda y libres de patógenos específicos.
- b) Obtener la relación del peso de la bolsa cloacal y el penúltimo lóbulo tímico entre el peso corporal de pollos convencionales y libres de patógenos específicos de 15 días de edad.
- c) Describir los hallazgos histológicos bursales y en timos de pollos convencionales y libres de patógenos específicos de 15 días de edad.

#### MATERIAL Y MÉTODOS

##### I. INSTALACIONES

Los pollos se alojaron en unidades de aislamiento de ambiente controlado con filtro de aire tipo HEPA con un 99.9 % de confianza en Tehuacan, Puebla, México.

## 2. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Se utilizaron 95 pollitos, sin sexar libres de patógenos específicos (ALPES), de un día de edad (Aves Libres de Patógenos Específicos S.A. de C.V.) y 106 pollitos convencionales (pollos de engorda), de un día de edad provenientes de una incubadora comercial.

## 3. ALIMENTO

Los pollos ALPES consumieron alimento elaborado por la misma empresa, laboratorio IASA, Tehuacán, Puebla, México, a partir del día 1 hasta el día 29 y agua a libre acceso.

Los pollos de engorda consumieron alimento elaborado por la misma empresa, laboratorio IASA, Tehuacán, Puebla, México, a libre acceso del día 1 al día 21 de edad. A partir del día 22 hasta el día 29 de edad se les restringió el consumo de alimento con un horario de 10 horas por día (8 a.m. a 6 p.m.) y agua a libre acceso.

## 4. INÓCULO DE DESAFÍO

Solución salina amortiguada con fosfatos (PBS). La PBS se elaboró según Purchase *et al.* <sup>31</sup> La cepa Edgar del VIBF (Lab. IASA, Tehuacán, Puebla, México) tuvo un título de  $10^{3.5}$  DLEP/50% /0.1 ml. <sup>31</sup> La cepa OGVP del VIBF es aislamiento viral obtenido a partir de pollo de engorda proveniente de parvadas comerciales de pollo de engorda de 2-3 semanas de edad sin vacunar VIBF en México. La cepa OGVP es cepa variante del VIBF ya que carece de los epitopos B69, R63 y  $10^{3.0}$ . El título de la cepa OGVP que se empleó fue  $10^{2.5}$  DLEP/50%/0.1 ml. <sup>31</sup>

## 5. DISEÑO DE GRUPOS

Los pollos "ALPES" y "Pollo de engorda" fueron distribuidos cada uno de manera aleatoria en 3 subgrupos el día 15 de edad hasta los 29 días de edad. Cuadro 1

### 5.1 Grupo "ALPES"

El grupo ALPES incluyó 95 pollos y se dividió en tres subgrupos con 30 aves cada subgrupo. Testigo negativo ALPES (Subgrupo I), Testigo positivo EDGAR ALPES (subgrupo II) y subgrupo prueba OGVP ALPES (subgrupo III). Al día 0 del experimento, 5 pollitos se designaron de manera aleatoria como testigos antes de la inoculación. El subgrupo I recibió 0.2 ml de PBS por medio de sonda esofágica a los 15 días de edad. El subgrupo II se inoculó con 0.2 ml con la cepa Edgar por medio de sonda esofágica a los 15 días de edad. El subgrupo III se inoculó con 0.2 ml con la cepa OGVP por medio de sonda esofágica a los 15 días de edad. Cuadro 1.

### 5.2 Grupo "pollo de engorda"

El grupo "pollo de engorda" (PE) incluyó 106 pollos y se dividió en tres subgrupos cada uno con 34 aves. Testigo negativo PE (subgrupo A), Testigo positivo EDGAR PE (subgrupo B) y prueba OGVP PE (subgrupo C). Al día 0 del experimento 4 pollitos se designaron de manera aleatoria como testigos antes de la inoculación. El subgrupo A recibió 0.2 ml de PBS por medio de sonda esofágica a los 15 días de edad. El subgrupo B se inoculó con 0.2 ml con la cepa Edgar por medio de sonda esofágica a los 15 días de edad. El subgrupo C fue inoculado con 0.2 ml con la cepa OGVP por medio de sonda esofágica a los 15 días de edad. Cuadro 1.

## 6. TOMA DE MUESTRAS

### 6.1 Signos clínicos

Se observó de manera individual el comportamiento y signos clínicos de los pollos en los subgrupos I, II, III, A, B y C los días 0, 1, 2, 3, 5, 7 y 14 PI.

### 6.2 Hallazgos macroscópicos a la necropsia

Se expusieron de manera individual los órganos de los pollos de los subgrupos I, II, III y los subgrupos A, B y C sacrificados por medio de dislocación cervical según American Veterinary Medical Association, JAVMA, <sup>82</sup> los días 0, 1, 2, 3, 5, 7 y 14 PI. La BC y los penúltimos últimos lóbulos tímicos de cada pollo fueron pesados de manera individual para obtener el índice bursal <sup>83</sup> y el índice tímico de cada pollo.

### 6.3 Hallazgos histológicos

De cada pollo sacrificado se tomó una muestra de BC y una cadena tímica para su análisis histológico, fueron fijados en formalina al 10 % amortiguado a un pH 7.4. Las muestras fueron procesadas por la técnica de inclusión en parafina y tinción de rutina hematoxilina y eosina (HE) <sup>83</sup> cada corte histológico fue de un grosor de 5  $\mu$ m.

### 6.4 Identificación de antígeno

El inóculo cepa OGVP, el cual se obtuvo a partir de una porción de la BC los días 2, 3 y 5 PI del subgrupos III y subgrupo C se sometió a la prueba de ELISA de captura de antígeno con las pruebas de 8 SCREENING IBD kit<sup>®</sup> (Synbiotics Corporation San Diego CA, USA) y IBDV TYPING kit<sup>®</sup> (Synbiotics Corporation San Diego CA, USA) de acuerdo a Lamichhane. <sup>84</sup>

## 7. EVALUACIÓN DE LAS MUESTRAS

### 7.1 Signos clínicos

Se describieron y compararon los cambios de conducta y la signología clínica de los subgrupos I, II, III, A, B y C los días 0, 1, 2, 3, 5, 7 y 14 PI.

### 7.2 Hallazgos macroscópicos

Se evaluó el aspecto macroscópico de la BC, timo, riñón, bazo, TC y proventrículo de los pollos sacrificados <sup>22</sup> de los subgrupos I, II, III, A, B y C de manera individual los días 0, 1, 2, 3, 5, 7 y 14 PI.

Para el índice bursal se calculó el peso en gramos de la BC completa de las aves sacrificadas <sup>23</sup> los días 0, 1, 2, 3, 5, 7 y 14 PI de los subgrupo I, II, III, A, B y C, en una báscula analítica con centésimas de gramo dividido entre el peso corporal en gramos del pollo correspondiente, pesado en una báscula de pesas con décimas de gramo antes del sacrificio, el resultado se multiplica por 1000. <sup>24</sup>

El índice tímico se calculo de la misma forma que el índice bursal, <sup>24</sup> pero tomando de forma individual el penúltimo lóbulo de ambas cadenas tímicas.

### 7.3 Hallazgos histológicos

La evaluación de la BC se llevó a cabo por medio de un microscopio fotónico con lente de medición reticular y los objetivos de 10 X y 40 X. Para la determinación del porcentaje de tejido linfoide promedio en 5 folias bursales, se midieron con ayuda de una lente de medición reticular el ancho en la parte media, de forma individual se hizo lo mismo con folículos linfoides en ella, la relación de estos dio como resultado un porcentaje que indica la cantidad de tejido linfoide. La cuenta de cuerpos

en apoptosis en 5 campos por BC se realizó con el objetivo de 10 X. Para la cuenta de células corticomedulares en 5 folículos por BC se empleó lente de medición reticular y el objetivo de 40 X.

Una cadena tímica de cada pollo se evaluó a través de un microscopio fotónico con el objetivo de 10 X para la cuenta de cuerpos en apoptosis en la corteza en 5 campos.

#### 7.4 Identificación del antígeno

La identificación del antígeno se realizó por medio de pruebas de gabinete de ELISA para diagnóstico contra VIBF obtenidos comercialmente. 8 SCREENING IBD kit® (Synbiotics Corporation San Diego CA, USA) el cual contiene AcM # 8 y IBDV TYPING kit® (Synbiotics Corporation San Diego CA, USA) el cual contiene los AcM's B69, R63 y # 10. La prueba de ELISA se realizó de acuerdo a Lamichhane<sup>44</sup>. Las microplacas se leyeron a 405 nm, con el lector ELISA BIOTEK® MOD. MX80. Los valores de densidad óptica se convirtieron en títulos ELISA, con el software ProFILE® (Synbiotics Corporation San DIEGO CA, USA)

#### 8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

A los resultados del índice bursal, índice tímico, porcentaje de tejido linfóide por folia, cuerpos en apoptosis en folículos bursales y corteza tímica y porcentaje de células corticomedulares se les aplicó análisis de variancia y las diferencias entre las medias de todos los dos grupos serán evaluadas entre ellas mediante la prueba de Tukey. Además, previo a estos análisis, a los índices expresados en porcentajes se les aplicó transformación logarítmica. La diferencia mínima se consideró con una diferencia significativa de  $p < 0.05$ <sup>45</sup>.



## RESULTADOS

### 1 Signos clínicos

En los subgrupos II y III se observó en el día 5 PI depresión leve y plumas erizadas 5/5. Los subgrupos I, A, B y C no presentaron ningún signo clínico.

### 2 Hallazgos macroscópicos

*a) Alteraciones bursales.* Las aves de los subgrupos I y A no presentaron cambios aparentes en BC. Las aves del subgrupo II presentaron el día 3 PI BC pequeñas 5/5; al día 7 PI se observó BC pequeñas 5/5; el día 14 PI se observó BC pequeñas de coloración amarillo pálido 5/5. Las aves de subgrupo B presentaron el día 5 PI BC edematosas de color amarillo 4/6, edematosas y pálidas 1/6 y BC pequeña y pálida 1/6; al día 7 PI se observó BC edematosa color amarillo intenso 2/6, BC edematosa pálida 3/6, BC pequeña y pálida 1/6; al día 14 PI se observaron BC pequeñas de color amarillo pálido 5/6, BC pequeña de color amarillo verdoso 1/6. Las aves del subgrupo III presentaron al día 3 PI BC muy pequeñas 5/5; al día 5 PI se observó BC pequeñas 5/5; al día 7 PI se observó BC pequeñas 5/5; al día 14 PI se observó BC pequeñas 5/5. Las aves del subgrupo C presentaron al día 5 PI BC pequeñas 5/6; al día 7 PI se observó BC pequeñas 6/6; al día 14 PI se observó BC pequeñas 6/6.

*b) Alteraciones de otros órganos.* En las aves de los subgrupos I y A se presentaron cambios aparentes con respecto a el resto de los subgrupos a la necropsia. Las aves del subgrupo II presentaron el día 2 PI TC con hemorragias petequiales leves 3/5; al día 3 PI se observó TC con hemorragias petequiales leves 5/5; al día 14 PI se observó TC con

hemorragias petequiales leves 3/5 y timos con hemorragias petequiales leve 3/5. Las aves del subgrupo B presentaron al día 2 PI timos con hemorragias petequiales moderado 3/5; al día 3 PI se observaron timos con hemorragias petequiales moderado 1/6 y leve 4/6; al día 5 PI se observaron timos con hemorragias petequiales moderado 4/6 y músculos pectorales con hemorragias en sufusión moderado 1/5 y folículos de pluma hemorrágicos leve 1/5 (de la misma ave); al día 7 PI se observaron timos con hemorragias petequiales leve 1/6. Las aves del subgrupo III presentaron al día 2 PI TC con hemorragias petequiales leve 2/5; al día 3 PI se observaron TC con hemorragias petequiales leve 5/5; al día 14 PI se observaron TC con hemorragias petequiales leve 5/5. Las aves del subgrupo C presentaron al día 2 PI timos con hemorragias petequiales leve 1/5; al día 3 PI se observaron timos con hemorragias petequiales leve 6/6; al día 5 PI se observaron timos con hemorragias petequiales leve 6/6 y músculos pectorales con hemorragias en equimosis leve 5/5.

c) *Índice bursal* Se observó un aumento los días 1 y 2 PI en los subgrupos II y III sin diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre ellos; el día 3 PI se presentó una reducción en el subgrupo III con diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto a los subgrupos I y II; el día 5 PI se observó una reducción en los subgrupos II y III con una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre ellos; los días 7 y 14 PI se observó una reducción en los subgrupos II y III sin diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre ellos. Figura 4.1

Al día 2 PI se observó una reducción en el subgrupo B y C sin diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre ellos; al día 5 PI se observó una reducción en el subgrupo C con diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto a los demás subgrupos; el día 7 PI se observó una reducción en los subgrupos B y C con diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre ellos; al día 14 PI se

observó una reducción en los subgrupos B y C sin diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre ellos. Figura 4.2.

*d) Índice tímico.* Se observó un aumento en los subgrupos II y III los días 3 y 5 PI con una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre ellos; el día 7 PI se observa una reducción en el subgrupo II con una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre el resto de los subgrupos. Figura 5.1. Al día 5 PI se observó un aumento en el subgrupo C con diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto a los demás subgrupos; al día 14 PI se observa un aumento en los subgrupos B y C sin una diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre ellos. Figura 5.2.

### 3 Hallazgos histológicos

*a) Porcentaje de tejido linfoide en follos bursales.* Se observa en el día 2 PI una reducción en el subgrupo III con una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto a los demás subgrupos; los días 3, 5, 7 y 14 PI se observa una reducción en los subgrupos II y III con una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre ellos. Figura 6.1.

El día 2 PI se observa una reducción en el subgrupo C con diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en relación a los demás subgrupos; el día 7 PI se observa una reducción en los subgrupos B y C con una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto al subgrupo A; los días 3, 5 y 14 PI se observa una reducción en los subgrupos B y C con una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre ellos. Figura 6.2.

*b) Cuerpos en apoptosis en folículos bursales.* Se observa un aumento el día 1 PI en el subgrupo III con diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto al subgrupo II; en el subgrupo II se observa un aumento el día 2 PI con diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en referencia al subgrupo I y III. Figura 7.1.

Se observa una reducción en los días 1 y 3 PI del subgrupo C con diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en referencia a los subgrupos A y B; no hubo diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre los subgrupos B y C al día 2 PI. Figura 7.2.

*c) Porcentaje de células corticomedulares en folículos bursales.* El día 1 PI se observa un aumento en los subgrupos II y III con diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto al subgrupo I; los días 3 y 7 PI se observa un aumento en el subgrupo III con una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto a los demás subgrupos; los días 2, 5 y 14 PI se observa un aumento en los subgrupos II y III con diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre ellos. Figura 8.1.

En los subgrupos B y C se observa un aumento en los días 2, 3, 5 y 7 PI con diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre ellos. Figura 8.2.

*d) Apoptosis en corteza tímica.* Se observó un aumento los días 1, 5, 7 y 14 PI en los subgrupos II y III con una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre ellos; el día 3 PI se observa un aumento en el subgrupo III con diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto a los demás subgrupos. Figura 9.1.

Se observa un aumento los días 1, 7 y 14 en los subgrupos B y C sin diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre ellos; el día 2 PI se observa un aumento en el subgrupo B con una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto al resto de los subgrupos; el día 3 PI se observa un aumento del subgrupo B con una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto al subgrupo A; el día 5 PI se observa un aumento en los subgrupos B y C con una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre ellos. Figura 9.2.

#### 4 Identificación del antígeno

La cepa OGVP resultó negativa a los antígenos de superficie R63, B69 y #10 mediante la prueba de ELISA de captura de antígeno y positivo al antígeno #8.

### DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

#### COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO

Los pollos ALPES inoculados con la cepa Edgar y con la cepa OGVP presentaron depresión al quinto día PI; estudios realizados con anterioridad demuestran que factores como la edad de los pollos,<sup>23, 42</sup> la capacidad del virus al replicarse en otros órganos como médula ósea y bazo,<sup>53</sup> el tipo de cepa que intervenga,<sup>41, 43</sup> el número de células bursales,<sup>57</sup> anticuerpos maternos presentes capaces de bloquear al virus<sup>58, 56</sup> son determinantes para la presentación clínica de la enfermedad, con signos como deshidratación, mortalidad, depresión y aumento de la temperatura corporal.<sup>9, 10, 12, 62, 64</sup>

Las lesiones hemorrágicas en los pollos de engorda, de acuerdo a lo reportado por varios autores, son debidas a alteraciones en la coagulación y a la formación de complejos inmunes.<sup>12, 42, 62, 61, 64</sup>

#### Conclusión

Los resultados sugieren que los pollos con anticuerpos inoculados con la cepa convencional Edgar y la cepa variante OGVP, presentaron una carga viral menor que los pollos sin anticuerpos, por lo tanto, la replicación viral no fue suficiente para provocar signos clínicos en los animales inoculados, como deshidratación y muerte, a diferencia de los pollos ALPES (sin anticuerpos), quienes a causa de la replicación viral y a la mayor carga viral presentaron depresión leve.

### LESIONES BURSALES

Las BC con apariencia edematosa en los pollos ALPES el día 14 PI y los pollos de engorda del día 5 PI hasta el día 14 PI inoculados con la cepa convencional denominada como Edgar;<sup>10, 12</sup> de acuerdo a lo indicado por Cheville NF<sup>10</sup> y Cho Y.<sup>11</sup> la presentación de las BC con aspecto edematoso en pollos inoculados con la cepa Edgar se observa durante los primeros días PI; los resultados indican que debido a la diferencia de 2 semanas de edad al momento de la inoculación, la presentación de BC edematosas se retrasa de 3 días PI hasta 5 días PI.

La atrofia bursal en los pollos ALPES desde el día 3 PI hasta el día 14 PI y en los pollos de engorda desde el día 5 PI hasta el día 14 PI, inoculados con la cepa variante OGVP,<sup>30</sup> de acuerdo a lo informado por Ismail NM en 1990<sup>37</sup> y Craft DW,<sup>48</sup> en el mismo año; en las cepas variantes del VIBF, corresponde al principal cambio macroscópico de las BC.

El aspecto edematoso de las BC, según reportes de cepas convencionales, es debido a la necrosis de los LB durante el principio de la infección, la cual está acompañada de una respuesta inflamatoria severa.<sup>4, 16, 43, 44</sup>

Las BC de los pollos inoculados con la cepa OGVP no presentaron aspecto edematoso, debido a que se realiza la replicación viral, pero la necrosis de los LB no es el efecto predominante; estudios indican que la ausencia de esta reacción inflamatoria severa,<sup>16, 43</sup> se debe a la inducción de la apoptosis inducida por el VIBF en los LB.<sup>19, 44</sup>

Hay reportes que sugieren que en presencia de epitopos virales en las células infectadas, los LT CD8 interactúan con estas células para destruirla y con ellas al virus durante su permanencia en el espacio intracelular.<sup>16, 72</sup> Aunado a esto, Elankumaran describe en pollos inoculados con una cepa variante (E/Delaware), necrosis bursal,

depresión linfoide en la ausencia de una respuesta inflamatoria y metaplasia del epitelio corticomedular del folículo bursal.<sup>89</sup>

Histológicamente, se observó una reducción del porcentaje del tejido linfoide en FB de los pollos ALPES inoculados con la cepa Edgar y OGVP, y en menor grado en los pollos de engorda inoculados con la cepa Edgar y OGVP. Los resultados indican que los anticuerpos maternos son capaces de bloquear a la cepa convencional y en cierta proporción a la cepa variante, al reducir la pérdida del tejido linfoide en los pollos de engorda y favorecer la recuperación del tejido linfoide bursal en pollos inoculados con la cepa convencional, sin embargo, se observó que la cepa OGVP provocó una pérdida de tejido linfoide en los FB en mayor grado que la cepa Edgar. Los resultados obtenidos en los pollos inoculados con la cepa Edgar concuerda con lo reportado por Cheville NF, quien describe un proceso degenerativo caracterizado por necrosis de LB en BC, aumento del epitelio corticomedular de los FB y una respuesta inflamatoria de moderada a severa,<sup>10</sup> aunado a condensación de la cromatina nuclear de LB.

Vasconcelos reporta que el VIBF es capaz de inducir en BC tanto necrosis como apoptosis, y sugiere que esta última juega un papel importante en la patogenia de la enfermedad.<sup>18</sup> La inducción de la apoptosis en pollos inoculados con VIBF ha sido también reportada en linfocitos sanguíneos periféricos.<sup>18, 19</sup> Por su parte Lam KM reporta que las células linfoides bursales y del bazo al ser expuestas al VIBF son observadas en apoptosis a los 4 días PI y encontró que la rápida deplición linfoide ocurre simultáneamente con el incremento de las células en apoptosis.<sup>19</sup> Otros estudios indican una correlación entre la replicación viral y la apoptosis de la las células de la BC.<sup>90, 91</sup>

Además de esto, Fernandez-Arias demuestra que la VP2 del VIBF por sí sola es un inductor de la apoptosis en líneas celulares de mamífero <sup>36</sup>. Yao K demuestra que la proteína NE de 17 kDa es capaz de inducir apoptosis en LB y en fibroblastos de embrión de pollo y que en la ausencia de esta el VIBF disminuye en eficiencia al liberarse de las células hospedadoras. <sup>33</sup> Se ha demostrado que las células en apoptosis VIBF son tanto células antígeno-positivas como antígeno-negativas. <sup>32</sup> a pesar de que la mayoría de las células que expresan antígeno viral en el citoplasma no presentaban apoptosis. <sup>17</sup>

#### **Conclusión**

El aumento de la apoptosis en el FB el día 1 PI en los pollos ALPES, la proliferación del epitelio corticomedular y la pérdida del tejido linfóide, el aspecto macroscópico de las BC, sugieren que la cepa OGVP variante causa inmunodepresión en los pollos debido a la inducción de la apoptosis por la interacción de los LT CD8 <sup>90</sup> y de la acción de proteínas virales, tales como la VP2 <sup>36</sup> y la VP5 o también conocida como proteína NE de 17 kDa, <sup>18, 33</sup> factor de necrosis tumoral (TNF) y otros estímulos celulares. <sup>72, 73, 74</sup> Para el caso de la cepa OGVP, los resultados sugieren que la apoptosis por medio de proteínas virales o por citocinas liberadas por LB, LT o macrófagos, es una vía empleada por el virus para su liberación al exterior.

#### **ALTERACIONES DE OTROS ÓRGANOS**

En los pollos ALPES se observaron hemorragias petequiales en TC en los subgrupos inoculados con la cepa Edgar y OGVP durante los primeros días de la infección, lo cual reporta Tanimura N. es debido a una replicación viral extensa tanto en BC como en TC acompañada de una acumulación de LT. <sup>16</sup> Valdéz LL informó de una cepa convencional que producen daño a nivel de TC. <sup>9</sup> en el caso de las cepas variantes.



Elankumaran reporta que existe una replicación viral a nivel de TC y médula ósea.<sup>89</sup> Los resultados indican que tanto en la cepa convencional como en la cepa variante, las TC son un sitio de replicación viral importante en pollos de 2 semanas de edad sin anticuerpos.

En los pollos de engorda se observó un puntillado de color rojo, clasificado como hemorragias petequiales en tímicos que fue de leve a moderado en los pollos inoculados con la cepa Edgar, y leve en los pollos inoculados con la cepa OGVP; los cambios en el índice tímico indican un aumento en el peso del penúltimo lóbulo tímico solo en los pollos ALPES inoculados con la cepa Edgar durante dos días y su reducción 7 días después; En el caso de los pollos de engorda se observa este aumento el día 5 PI en las aves expuestas a la cepa OGVP y el día 14 PI en los subgrupos Edgar y OGVP. En relación a los hallazgos histopatológicos, la corteza presenta un aumento en las células en apoptosis en los pollos inoculados con la cepa Edgar y en los pollos inoculados con la cepa OGVP; siendo estos últimos los más afectados. Según reporta Cheville NF,<sup>10</sup> en corteza tímica se observa necrosis durante los primeros días de la infección, sin embargo, en el presente estudio sólo se observa un incremento en la apoptosis en la corteza tímica; es probable que factores como la edad,<sup>23, 42, 53</sup> el número de células bursales<sup>57</sup> y anticuerpos maternos<sup>60</sup> interfieren con la presentación de lesiones en este órgano en el caso de los pollos expuestos a la cepa Edgar; según lo reporta por Inoue M en 1994, las cepas convencionales y las cepas altamente virulentas son capaces de inducir apoptosis en corteza tímica y la cantidad es superior en el caso de las cepas altamente virulentas.<sup>93</sup> Mediante el uso de la prueba de inmunoabsorbencia ligada a enzimas (ELISA) de captura se demostró la ausencia de los sitios de neutralización definidos por los AcM's B69, R63, # 10 y la presencia del

sitio de neutralización definido por el AcM # 8; de acuerdo con Snyder DB, las cepas convencionales reaccionan con todos estos sitios de neutralización, en su ausencia estas son consideradas como cepas variantes <sup>47, 51</sup>.

### **Conclusión**

De los datos obtenidos podemos concluir que los anticuerpos maternos evitan la libre replicación viral en el caso de las cepas convencionales y en grado menor en la cepa OGVP variante en los pollos de engorda. De tal manera inferimos que debido a la ausencia de anticuerpos y al desarrollo del timo y de la BC a la edad de 2 semanas, los pollos ALPES fueron más afectados en TC, sin embargo, en los pollos de engorda con anticuerpos y con un mayor desarrollo del timo y BC a la edad de 2 semanas, fueron más afectados en timos.

Los efectos de la cepa OGVP variante indican que el proceso de apoptosis es de gran importancia en la patogenia de las cepas variantes, tanto en los LT y LB.

## LITERATURA CITADA

1. Cosgrove AS. An apparently new disease of chicken avian nephrosis. *Avian Dis* 1962; 6:385-389.
2. Winterfield RW, Hitchner SB. Etiology of infection nephrosis-nephritis syndrome of chickens. *Am J Vet Res* 1962; 23:1273-1279.
3. Lasher HN, Davis VS. History of infection bursal disease in the U.S.A. The first two decades. *Avian Dis* 1997; 41:11-19.
4. Lukert PD, Saif M. Infection bursal diseases. In: Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, MacDougald LR, Saif YM, editors. *Diseases of poultry*. 10th ed. Iowa: Iowa State University Press, 1997:721-738.
5. Mc Ferran JB. Infectious bursal disease. In: Mc Ferran JB, McNully MS, editors. *Virus infections of vertebrates. Virus infectious of birds*. Amsterdam: Elsevier press, 1993:213-228.
6. Edgar SA. Infectious bursal disease (Gumboro disease) prevention and control. 10th Annual poultry health and management short course; 1966:93-98.
7. Correa GP. Resultados sobre la identificación de dos virus que se asemejan al de la nefritis-nefrosis aviaria y de la enfermedad de Gumboro. Informe anual del centro nacional de investigaciones pecuarias. SAG. México; 1965:12-13.
8. Correa GP. Algunos aspectos de la nefrosis aviaria y la enfermedad producida por el agente infeccioso de la bolsa de Fabricio en México. *Tec Pec en México LIMP*. México; 1969:98-104.
9. Valdés LL, Lucio MB, Antillon RA. Estudio clínico-patológico y por inmunofluorescencia de la infección de la bolsa de Fabricio (enfermedad de Gumboro). *Vet Méx* 1971; 2:5-10.

10. Cheville NF. Studies on the pathogenesis of Gumboro disease in the bursa of Fabricius, spleen, and thymus of chicken. *Am J Pathol* 1967; 51:527-551.
11. Cho Y, Edgar SA. Characterization of the infectious bursal agent. *Poultry Sci* 1969; 48:2102-2109.
12. Cho Y, Edgar SA. The infectious bursal agent and pathology of the disease (abstract). *Poultry Sci* 1968; 47(5):1661.
13. Edgar SA, Cho Y. Immunization of chickens for the control of infectious bursal disease. *Poultry Sci* 1973; 52:492-497.
14. Hirai K, Calnek BW. *In vitro* replication of infectious bursal disease in established lymphoid cell line and chicken B lymphocytes. *Infect Immun* 1979; 25:964-970.
15. Nakai T, Hirai K. *In vitro* fractionated chicken lymphocytes by infectious bursal disease virus. *Avian Dis* 1981; 25:831-838.
16. Tanimura N, Sharma JM. Appearance of T cells in the bursa of Fabricius and cecal tonsils during the acute phase of infectious bursal disease virus infection in chickens. *Avian Dis* 1997; 41:638-645.
17. Jungmann A, Nieper H, Möller H. Apoptosis is induced by infectious bursal disease virus replication in productively infected cells as well as in antigen-negative cells in their vicinity. *J Gen Virol* 2001; 82:1107-1115.
18. Vasconcelos AC, Lam KM. Apoptosis induced by infectious bursal disease virus. *J Gen Virol* 1994; 45:1803-1806.
19. Lam KM. Morphological evidence of apoptosis in chickens infected with infectious bursal disease virus. *J Comp Path* 1997; 116:367-377.

20. Lam KM. Lysis of chicken lymphocytes by infectious bursal disease viruses. *Avian Dis* 1988; 32: 818-821.
21. Murphy FA, Gibbs EPJ, Horzinek MC, Studdert MJ. *Veterinary virology*. 3rd ed. USA: Academic Press, 1999.
22. Dohms JE. The effect of infectious bursal disease virus infection on local and systemic antibody responses following infection of 3-week-old broiler chickens. *Avian Dis* 1988; 32:632-640.
23. Hirai K, Shimakura S, Kawamoto E, Taguchi F, Kim ST, Chang CN. The immunodepressive effect of infectious bursal disease virus in chickens. *Avian Dis* 1974; 18:50-57.
24. Hirsh DC, Zee YC. *Veterinary microbiology*. USA: Blackwell science, Inc. 1999.
25. Rosales AG. Control actual de la enfermedad de la bolsa de Fabricio. *Memorias de X seminario internacional de patología y producción aviar: 2002 marzo 27-31*; E.U.A. Georgia (Athens). Universidad de Georgia, 2002.
26. Fenner F, Bachmann PA, Gibbs EPJ, Murphy FA, Studdert MJ, White DO. *Virología veterinaria*. Zaragoza: Acribia S.A. 1992.
27. Cao YC, Yeung WS, Law M, Bi YZ, Leung FC, Lim BL. Molecular characterization of seven Chinese isolates of infectious bursal disease virus: classical, very virulent, and variant strains. *Avian Dis* 1998; 42:340-351.
28. *World poultry especial octubre 2001: Revista de producción, procesamiento y comercialización (Holanda)*: Elsevier.
29. Jackwood DJ, Sommer SE. Genetic heterogeneity in the VP2 genes of infectious bursal disease viruses detected in commercially reared chickens. *Avian Dis* 1998; 42: 321-339.

30. Bayyari GR, Story JD, Beasley JN, Skeeles JK. Pathogenicity studies of an Arkansas variant infectious bursal disease virus. *Avian Dis* 1996; 40:516-532.
31. Yamaguchi T, Ogawa M, Inoshima Y, Miyoshi M, Fukushi H, Hirai K. Identification of sequence changes responsible for the attenuation for highly virulent infectious bursal disease virus. *Virology* 1996; 223: 219-223.
32. Hassan MK, Saif YM. Influence of the host system on the pathogenicity, immunogenicity, and antigenicity of infectious bursal disease virus. *Avian Dis* 1996; 40:553-561.
33. Yao K, Vakharia VN. Induction of apoptosis *in vitro* by the 17-kDa nonstructural protein of infectious bursal disease virus: Possible role in viral pathogenesis. *Virology* 2001; 285:50-58.
34. Yao K, Goodwin MA, Vakharia VN. Generation of a mutant infectious bursal disease virus that does not cause bursal lesions. *J Virol* 1998; 72:2647-2654.
35. Noteborn MHM, Todd D, Verschueren CA, De Gouw HW, Curran WL, Veldkamp S, *et al.* A single chicken anemia virus protein induces apoptosis. *J Virol* 1994; 68:346-351.
36. Fernández-Arias A, Martínez S, Rodríguez JF. The major antigenic protein of infectious bursal disease virus, VP2, is an apoptotic inducer. *J Virol* 1997; 72:8014-8018.
37. Chin RP, Yamamoto R, Lin W, Lam KM, Farver TB. Serological survey of infectious bursal disease virus serotypes I and 2 in California turkeys. *Avian Dis* 1984; 28:1026-1036.
38. Sivanandan V, Limcumpao JA, Benson HJ, Newman JA. Serological evidence of infectious bursal disease virus serotype II infection in Minnesota turkeys. *Avian Dis* 1984; 28:765-769.

39. Ismail NM, Saif YM, Moorhead PD. Lack of pathogenicity of five serotypes 2 infectious bursal disease viruses in chickens. *Avian Dis* 1988; 32:757-759.
40. Jackwood DJ, Saif YM, Hughes JH. Nucleic acid and structural proteins of infectious bursal disease virus isolates belonging to serotypes I and II. *Avian Dis* 1984; 28:990-1006.
41. Snyder DB. Changes in the field status of infectious bursal disease virus. *Avian Pathol* 1990; 19:419-423.
42. Fadly AM, Nazerian K. Pathogenesis of infectious bursal disease in chickens infected with virus at various ages. *Avian Dis* 1983; 27:714-722.
43. Sharma JM, Dohms JE, Metz AL. Comparative pathogenesis of serotype I and variant serotype I isolates of infectious bursal disease virus and their effect on humoral and cellular immune competence of specific-pathogen-free chickens. *Avian Dis* 1989; 33:112-124.
44. Ridell C, editor. *Avian histopathology*. 2nd ed. Saskatchewan: American Association of avian pathologist Inc. 1997.
45. Jackwood DJ. Enfermedad infecciosa de la bolsa: situación mundial. *Memorias de X seminario internacional de patología y producción aviar*; 2002 marzo 27-31; E.U.A. Georgia (Athens). Universidad de Georgia; 2002.
46. Tamayo M. Los nuevos virus de la enfermedad de la bolsa de Fabricio. *Memorias de VIII jornadas médico avícolas*; 2002 febrero 20-22; México, México (DF): Facultad de medicina veterinaria y zootecnia, UNAM; 2002: 275-277.

47. Snyder DB, Vakharia VN, Savage PK. Naturally occurring-neutralizing antibody escape variants define the epidemiology of infectious bursal disease viruses in the United States. *Arch Virol* 1992; 127:89-101.
48. Jackwood DJ, Saif YM. Antigenic diversity of infectious bursal disease viruses. *Avian Dis* 1987; 31:766-770.
49. Cho BR, Snyder DP, Lana DP, Marquardt WW. An immunoperoxidase monoclonal antibody stain for rapid diagnosis of infectious bursal disease. *Avian Dis* 1987; 31:538-545.
50. García VO, Petrone MV, Fehervari BT. Identificación de cepa variante del virus de la infección de la bolsa de Fabricio por medio de captura de antígeno proveniente de pollo de engorda mexicanos en el año 2001. *Memorias de VIII jornadas médico avícolas; 2002 febrero 20-22; México, México (DF): Facultad de medicina veterinaria y zootecnia, UNAM, 2002; 89-91.*
51. Snyder DB, Lana DP, Savage PK, Yancey FS, Mengel SA, Marquardt WW. Differentiation of infectious bursal disease viruses directly from infected tissues with neutralizing monoclonal antibodies: evidence of a major antigenic shift in recent field isolates. *Avian Dis* 1988; 32:535-539.
52. Snyder DB, Lana DP, Cho BR, Marquardt WW. Groups and strain-specific neutralization sites of infectious bursal disease virus defined with monoclonal antibodies. *Avian Dis* 1988; 32:527-534.
53. Tsukamoto K, Tanimura N, Mase M, Imai K. Comparison of virus replication efficiency in lymphoid tissues among three infectious bursal disease virus strains. *Avian Dis* 1995; 39:844-852.



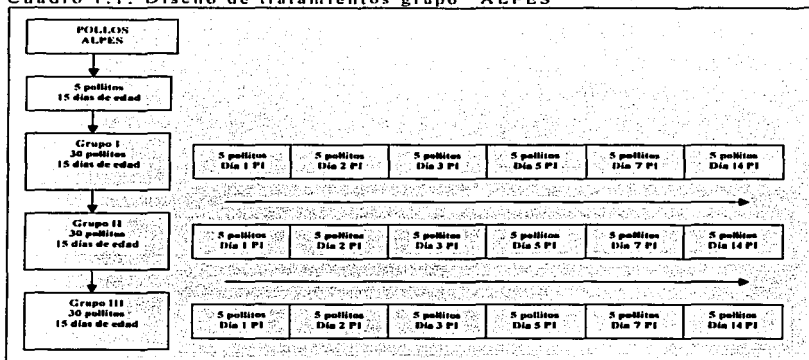
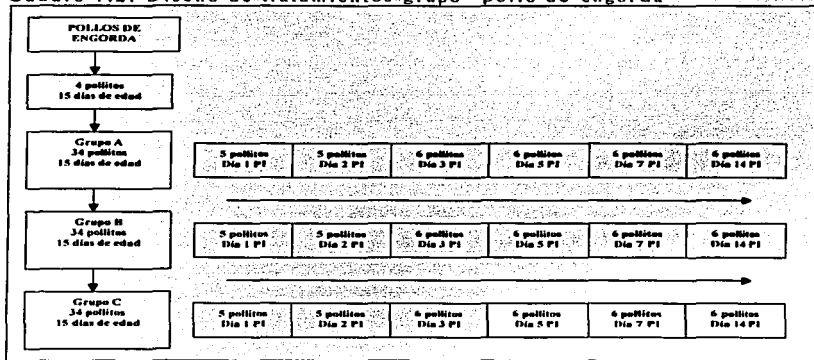
54. Kim In-J, Gagic M, Sharma JM. Recovery of antibody production ability and lymphocyte repopulation of bursal follicles in chickens exposed to infectious bursal disease virus. *Avian Dis* 1999; 43:401-413.
55. Ley DH, Storm N, Bickford AA, Yamamoto R. An infectious bursal disease virus outbreak in 14- and 15-week-old chickens. *Avian Dis* 1979; 23:235-240.
56. Hirai K, Funakoshi T, Nakai T, Shimakura S. Sequential changes in the number of surface immunoglobulin-bearing B lymphocytes in infectious bursal disease virus-infected chickens. *Avian Dis* 1981; 25:484-496.
57. Ismail NM, Fady AM, Chang TS. Effect of bursal cell number on the pathogenesis of infectious bursal disease in chickens. *Avian Dis* 1987; 31:546-555.
58. Käufer I, Weiss E. Significance of bursal of Fabricius as target organ in infectious bursal disease of chickens. *Infection and immunity* 1980; 27:364-367.
59. Schat KA, Lucio B, Carlisle JC. Pathogenesis of infectious bursal disease in embryonally bursectomized chickens. *Avian Dis* 1981; 25:996-1004.
60. Cascante R. Evaluación serológica y morfológica de la respuesta inmune humoral en pollos de engorda vacunados a los días 1 y 9 de edad con dos cepas medianamente virulentas del virus de la infección de la bolsa de Fabricio (tesis de licenciatura). México (DF) México: UNAM, 2001.
61. Ley DH, Yamamoto R. Immune-complex involvement in the pathogenesis of infectious bursal disease virus in chickens. *Avian Dis* 1979; 23:219-224.

62. Skeeles JK, Lukert PD, De Buyscher EV, Fletcher OJ, Brown J. infectious bursal disease viral infectious. II. The relationship of age, complement levels, virus-neutralizing antibody, clotting and lesions. *Avian Dis* 1979; 23:107-117.
63. Kaufmann SHE, Sher A, Ahmed R, editors. Immunology of infectious diseases. 1st ed. Washington, D.C.: American society for microbiology, 2002.
64. Skeeles JK, Lukert PD, De Buyscher EV, Fletcher OJ, Brown J. infectious bursal disease viral infectious. I. complement and virus-neutralizing antibody response following infection of susceptible chickens. *Avian Dis* 1979; 23:95-106.
65. Whitrow GC, editor. Sturkie's avian physiology. 5th ed. California: Academia press, 2000.
66. Sisson S, Grossman JD, editores. Anatomía de los animales domésticos. 5ª ed. México: Salvat ciencia y cultura Latinoamérica, S.A. de C.V., 1982.
67. Khan MZ, Hashimoto Y. An immunohistochemical analysis of T cell subsets, in the chickens bursal of Fabricius during postnatal stages of development. *J Vet Med Sci* 1996; 58:1231-1234.
68. Kim In-J, You SK, Kim H, Yeh H-Y, Jagdev M. Characteristics of bursal T lymphocytes induced by infectious bursal disease virus. *J Virol* 2000; 74:8884-8892.
69. Odend'hal S, Breazile JE. An area of T cell localization in the cloacal bursa of white Leghorn chickens. *Am J Vet Res* 1980; 41:255-258.
70. Potworowski EF. T and B lymphocytes: Organ and age distribution in the chicken. *Immunol* 1972; 23:199-204.

71. Sharma JM, editor. Avian cellular immunology. 1st ed. Florida: CRC press Inc. 1991.
72. Rautenschlein S, Yeh H-Y, Njenga MK, Sharma JM. Role of intrabursal T cells in infectious bursal disease virus (IBDV) infection: T cells promote viral clearance but delay follicular recovery. Arch Virol 2002; 147:285-304.
73. Slauson DO, Cooper BJ. Mechanisms of disease. A textbook of comparative general pathology. 3rd ed. Missouri: Mosby, Inc. 2002
74. Van Chuchten S, Van Den Broeck W. Morphological and biochemical aspects of oncosis and necrosis. Anat Histol Embryol 2002; 31:214-223.
75. Kerr JFR. Shrinkage necrosis: a distinct mode of cell death. J Pathol 1972; 105:13-20.
76. Fadok VA, Voelker DR, Camperbell PA, Cohen JJ, Bratton DL, Henson PM. Exposure of phosphatidylserin on the surface of apoptotic lymphocytes triggers specific recognition and removal by macrophages. J Immunol 1992; 148:2207-2216.
77. Flores-Pérez, FI. ¿Es la muerte importante para la vida? Is death important for life?. Vet Méx 2002; 33:161-172.
78. Tamayo MS. Inmunoprofilaxis en la infección de la bolsa de Fabricio. Memorias de IX jornadas médico avícolas; 2003 febrero 19-21; México, México (DF): Facultad de medicina veterinaria y zootecnia, UNAM; 2003.
79. Salem ME, Odor E, Rosenberger JK, Cloud S, Simple B. evaluación de la protección contra la enfermedad de Gumboro en parvadas de pollo mediante desaffo. Memorias de X seminario

- internacional de patología y producción aviar: 2002 marzo 27-31; E.U.A. Georgia (Athens). Universidad de Georgia. 2002.
80. Rosales GA, Villegas P. calendarios de vacunación en reproductoras pesadas y controles serológicos para evaluar la respuesta postvacunal. Memorias de X seminario internacional de patología y producción aviar: 2002 marzo 27-31; E.U.A. Georgia (Athens). Universidad de Georgia. 2002.
81. Purchase HG, Lawrence AH, Domermuth CH, Pearson JE. A laboratory Manual for the isolation and identification of avian pathogens. 3rd ed. Pennsylvania United States: 1989.
82. Andrews EJ, Bennett BT, Clark JD, Houpt KA, Pascoe PJ, Robinson GW, Boyce JR. Report of the AVMA Panel on Euthanasia: American Veterinary Medical Association. JAVMA 1993; 202: 229-249.
83. Allen TC. Hematoxilina y Eosina. In: Prophet EB, Millis B, Arrington JB, Sobón LII, editores. Métodos histotecnológicos. Washington D.C. Instituto de patología de las fuerzas armadas de los EUA. 1995.
84. Lamichhane CM, Jerome L, Adennikinju B. ELISA for the detection and differentiation of infectious bursal disease virus. 49th western poultry disease conference. Sacramento, CA 2000.
85. Dawson SB, Trapo RG. Bioestadística medica. Santa fé de Bogota: Manual moderno. 1993.
86. Hitchner SB. Persistence of parental infectious bursal disease antibody and its effects on susceptibility of young chickens. Avian Dis 1971; 15:894-900.

87. Ismail NM, Saif YM, Wiggle WL, Havenstein GB, Jackson C. Infectious bursal disease virus variant from commercial Leghorn pullets. *Avian Dis* 1990; 34:141-145.
88. Craft DW, Brown J, Luckert PD. Effects of standard and variant strains of infectious bursal disease virus on infections of chickens. *Am J Vet Res* 1990; 51:1192-1197.
89. Blankumara S, Heckert RA, Moura L. Pathogenesis and tissue distribution of a variant strain of infectious bursal disease virus in commercial broiler chickens. *Avian Dis* 2002; 46:169-176.
90. Nieper H, Teifke JP, Jungmann A, Lohr CV, Müller H. Infected and apoptotic cells in the IBDV-infected bursa of Fabricius, studied by double-labelling techniques. *Avian Pathol* 1999; 28:279-285.
91. Ojeda F, Skardova I, Guarda MI, Ulloa J, Folch H. Proliferation and apoptosis in infection with infectious bursal disease virus: a flow cytometric study. *Avian Dis* 1997; 41:312-316.
92. Tanimura N, Sharma JM. In situ apoptosis in chickens infected with infectious bursal disease virus. *J Comp Pathol* 1998; 118:15-27.
93. Inoue M, Fukuda M, Miyano K. Thymic lesions in chicken infected with infectious bursal disease virus. *Avian Dis* 1994; 38:839-846.

**CUADROS****CUADRO 1. DISEÑO DE TRATAMIENTOS.****Cuadro 1.1. Diseño de tratamientos grupo "ALPES"****Cuadro 1.2. Diseño de tratamientos grupo "pollo de engorda"**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## FIGURAS

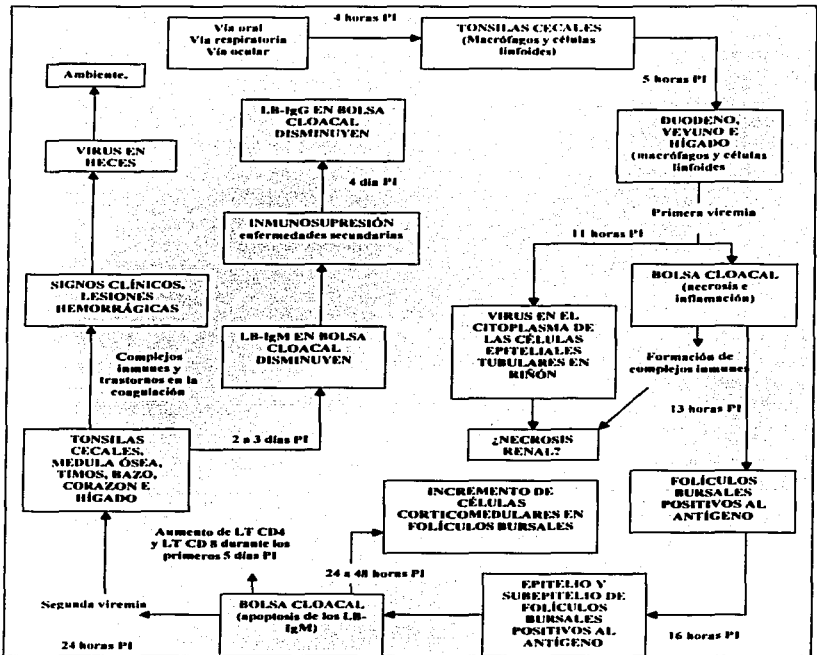


FIGURA 1. Patogénesis de la infección de la bolsa de Fabricio.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**





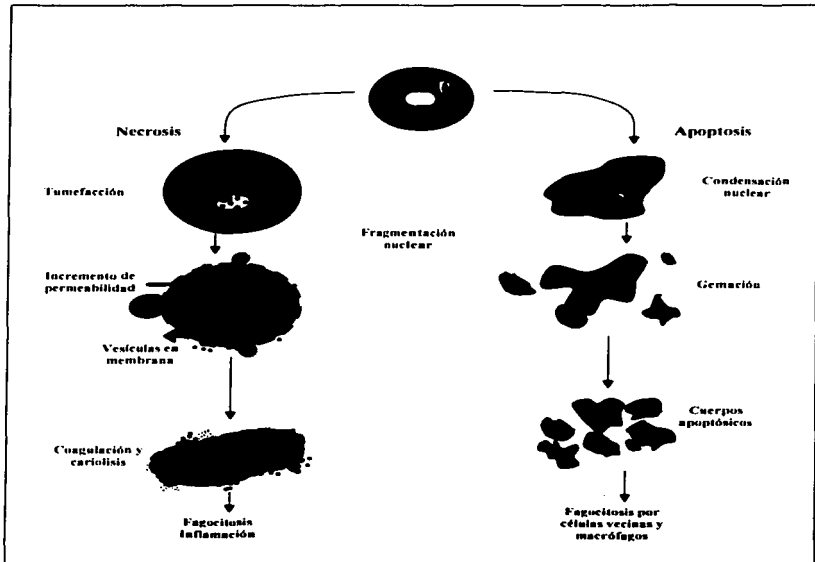
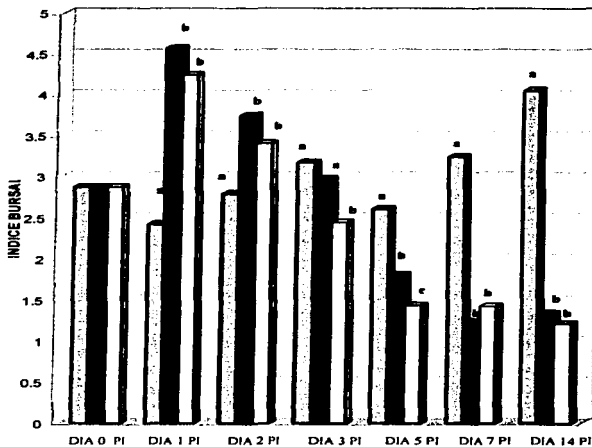


Figura 3 Secuencia de eventos morfológicos en necrosis y apoptosis.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

FIGURA 4.1: ÍNDICE BURSAL EN POLLOS ALPES



GRUPO	DIA 0 PI Media ± S <sup>1</sup>	DIA 1 PI Media ± S <sup>1</sup>	DIA 2 PI Media ± S <sup>1</sup>	DIA 3 PI Media ± S <sup>1</sup>	DIA 5 PI Media ± S <sup>1</sup>	DIA 7 PI Media ± S <sup>1</sup>	DIA 14 PI Media ± S <sup>1</sup>
I-Testigo	2.87±1.32	2.42±0.77 a	2.79±0.91 a	3.18±0.88 a	2.61±0.33 a	3.25±0.48 a	4.05±1.11 a
II-Edgar	2.87±1.32	4.57±0.87 b	3.75±0.91 b	2.98±0.67 a	1.80±0.60 b	1.23±0.32 b	1.34±0.19 b
III-OVP <sup>2</sup>	2.87±1.32	4.34±1.42 b	3.41±0.69 b	2.45±0.50 b	1.43±0.17 c	1.42±0.26 b	1.21±0.23 b

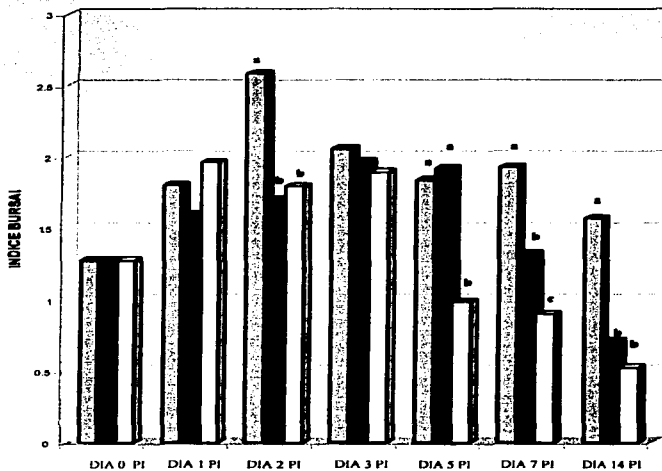
GRUPOS: I-Testigo, II-Edgar, III-OVP.

± <sup>1</sup> Media ± Desviación Estándar.

◊ Literales distintas señalan diferencia significativa entre los subgrupos (P<0,05).

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

FIGURA 4.2: ÍNDICE BURSAL EN POLLOS DE ENGORDA



	DIA 0 PI	DIA 1 PI	DIA 2 PI	DIA 3 PI	DIA 5 PI	DIA 7 PI	DIA 14 PI
GRUPO	Media ± S1	Media ± S1	Media ± S1	Media ± S1	Media ± S1	Media ± S1	Media ± S1
A-Testigo	1.27±0.47	1.80±0.45	2.58±0.68 a	2.05±0.59	1.83±0.82 a	1.92±0.49 a	1.56±0.30 a
B-Edgar	1.27±0.47	1.59±0.28	1.70±0.63 b	1.96±0.74	1.91±0.79 a	1.32±0.69 b	0.71±0.18 b
C-OQVP	1.27±0.47	1.98±0.38	1.79±0.57 b	1.89±0.65	0.98±0.40 b	0.90±0.50 c	0.52±0.11 b

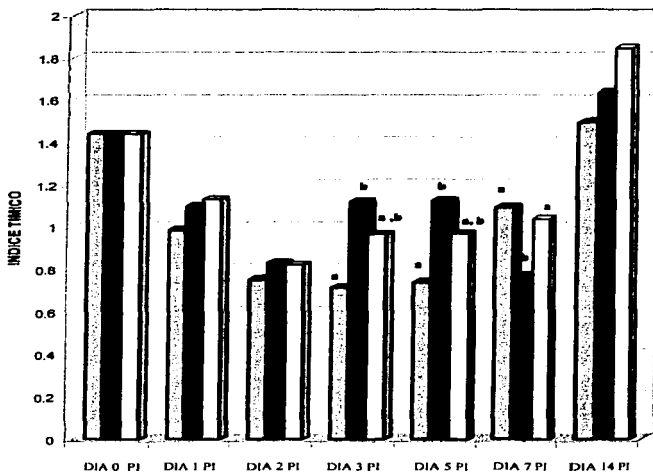
GRUPOS: A-Testigo. B-Edgar. C-OQVP.

◆ Media ± Desviación Estándar

◆ Literales distintas señalan diferencia significativa entre los subgrupos (P<0.05).

TESIS CON  
VALIA DE ORIGEN

FIGURA 5.1: ÍNDICE TÍMICO EN POLLOS ALPES



	DIA 0 PI	DIA 1 PI	DIA 2 PI	DIA 3 PI	DIA 5 PI	DIA 7 PI	DIA 14 PI
GRUPO	Media ± S <sup>1</sup>	Media ± S <sup>1</sup>	Media ± S <sup>1</sup>	Media ± S <sup>1</sup>	Media ± S <sup>1</sup>	Media ± S <sup>1</sup>	Media ± S <sup>1</sup>
I-Testigo	1.43±0.77	0.99±0.44	0.78±0.32	0.71±0.24 a	0.73±0.43 a	1.09±0.28 a	1.49±0.28
II-Edgar	1.43±0.77	1.09±0.41	0.83±0.25	1.12±0.30 b	1.12±0.42 b	0.77±0.18 b	1.83±0.69
III-OGVP	1.43±0.77	1.13±0.28	0.82±0.35	0.96±0.38 a, b	0.96±0.25 a, b	1.04±0.43 a	1.84±0.63

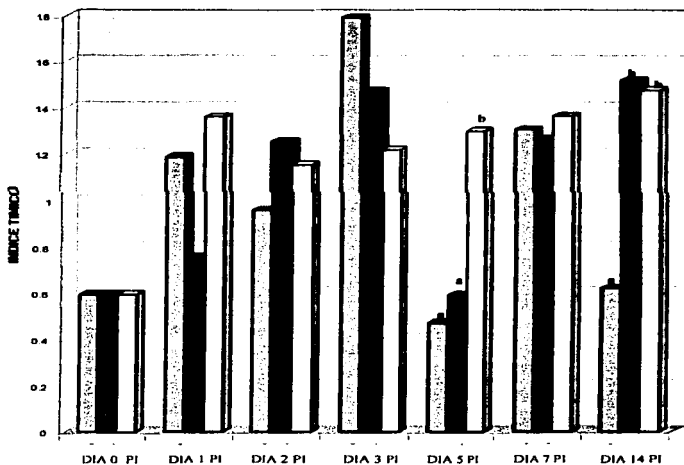
GRUPOS:  I-Testigo.  II-Edgar.  III-OGVP.

±<sup>1</sup> Media ± Desviación Estándar.

◊ Literales distintas señalan diferencia significativa entre los subgrupos (P<0.05).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

FIGURA 5.2: ÍNDICE TÍMICO EN POLLOS DE ENGORDA



GRUPO	DÍA 0 PI Media ± S'	DÍA 1 PI Media ± S'	DÍA 2 PI Media ± S'	DÍA 3 PI Media ± S'	DÍA 5 PI Media ± S'	DÍA 7 PI Media ± S'	DÍA 14 PI Media ± S'
A-Testigo	0.59±0.19	1.18±0.85	0.95±0.26	1.79±0.51	0.47±0.17 a	1.30±0.21	0.62±0.24 a
B-Edgar	0.59±0.19	0.75±0.11	1.25±0.73	1.47±0.73	0.59±0.09 a	1.26±0.29	1.51±0.37 b
C-OGVP	0.59±0.19	1.38±0.88	1.14±0.65	1.21±0.25	1.29±0.30 b	1.39±0.20	1.47±0.51 b

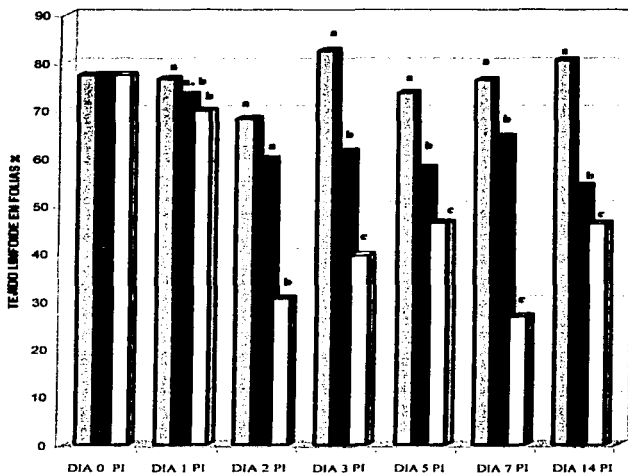
GRUPOS:  A-Testigo  B-Edgar.  C-OGVP.

♦ <sup>1</sup> Media ± Desviación Estándar.

♦ Literales distintas señalan diferencia significativa entre los subgrupos (P<0.05).

**TESIS CON  
PLA DE ORIGEN**

FIGURA 6.1: PORCENTAJE DE TEJIDO LINFOIDE EN FOLIAS DE POLLOS ALPES



	DIA 0 PI	DIA 1 PI	DIA 2 PI	DIA 3 PI	DIA 5 PI	DIA 7 PI	DIA 14 PI
GRUPO	Media ± S <sup>1</sup>	Media ± S <sup>1</sup>	Media ± S <sup>1</sup>	Media ± S <sup>1</sup>	Media ± S <sup>1</sup>	Media ± S <sup>1</sup>	Media ± S <sup>1</sup>
I-Testigo	77.41±3.74	76.65±0.27 a	66.37±12.76 a	82.63±3.21 a	73.72±7.01 a	76.48±3.94 a	80.62±1.90 a
II-Edgar	77.41±3.74	73.35±5.68 a, b	59.67±11.37 a	61.27±9.09 b	57.93±6.88 b	64.55±6.88 b	54.12±7.45 b
III-OGVP	77.41±3.74	69.91±10.50 b	30.61±8.61 b	39.81±10.66 c	46.47±9.39 c	26.78±13.63 c	46.35±9.89 c

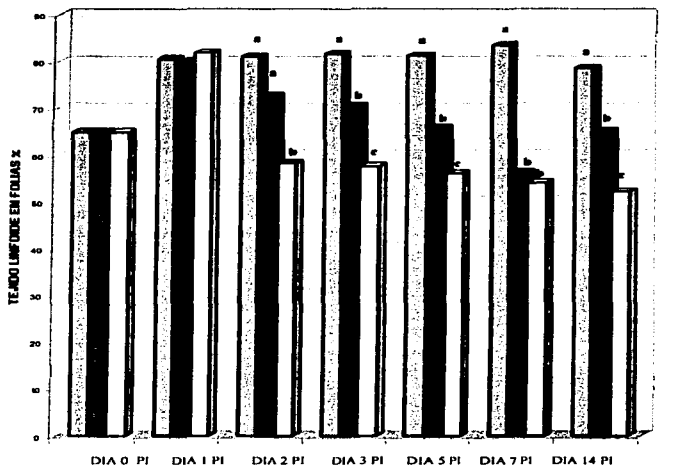
GRUPOS:  I-Testigo.  II-Edgar.  III-OGVP.

♦ <sup>1</sup> Media ± Desviación Estándar.

♦ Literales distintas señalan diferencia significativa entre los subgrupos (P<0.05).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

FIGURA 6.2: PORCENTAJE DE TEJIDO LINFOIDE EN FOLIAS DE POLLOS DE ENGORDA



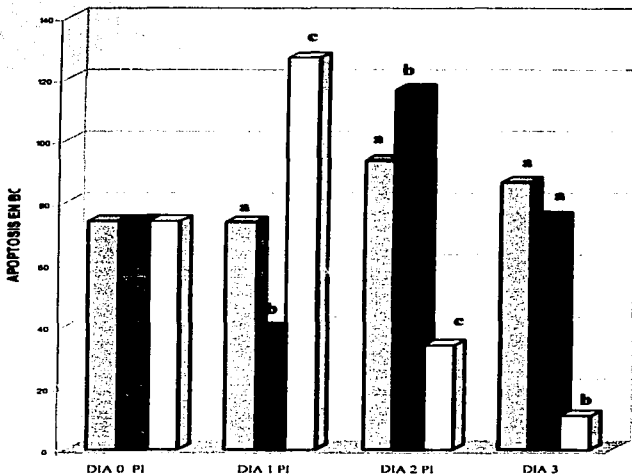
	DIA 0 PI	DIA 1 PI	DIA 2 PI	DIA 3 PI	DIA 5 PI	DIA 7 PI	DIA 14 PI
GRUPO	Medio ± S <sup>1</sup>	Medio ± S <sup>1</sup>	Medio ± S <sup>1</sup>	Medio ± S <sup>1</sup>	Medio ± S <sup>1</sup>	Medio ± S <sup>1</sup>	Medio ± S <sup>1</sup>
A-Testigo	64.90±12.74	80.62±3.52	81.12±8.38 a	81.71±1.93 a	81.31±2.24 a	83.90±1.83 a	78.70±5.80 a
B-Edgar	64.80±12.74	79.87±4.30	72.77±5.74 a	79.38±11.89 b	65.72±11.51 b	86.33±7.18 b	85.71±8.09 b
C-OGVP	64.90±12.74	81.84±3.35	58.27±20.75 b	57.64±10.62 c	58.10±6.83 c	64.15±4.12 c	52.72±3.38 c

GRUPOS:  A-Testigo,  B-Edgar,  C-OGVP.

♦ <sup>1</sup> Medio ± Desviación Estándar.

♦ Literales distintas señalan diferencia significativa entre los subgrupos (P<0.05).

FIGURA 7.1: CUERPOS APOPTÓTICOS EN BC DE POLLOS ALPES



	DIA 0 PI	DIA 1 PI	DIA 2 PI	DIA 3 PI
GRUPO	Media $\pm$ S'	Media $\pm$ S'	Media $\pm$ S'	Media $\pm$ S'
I-Testigo	73.96 $\pm$ 10.39	73.68 $\pm$ 12.52 a	93.64 $\pm$ 40.80 a	86.52 $\pm$ 5.13 a
II-Edgar	73.96 $\pm$ 10.39	39.36 $\pm$ 7.69 b	116.68 $\pm$ 30.50 b	75.12 $\pm$ 99.73 a
III-OGVP	73.96 $\pm$ 10.39	126.88 $\pm$ 74.47 c	33.62 $\pm$ 23.74 c	11.12 $\pm$ 2.42 b

GRUPOS:  I-Testigo.  II-Edgar.  III-OGVP.

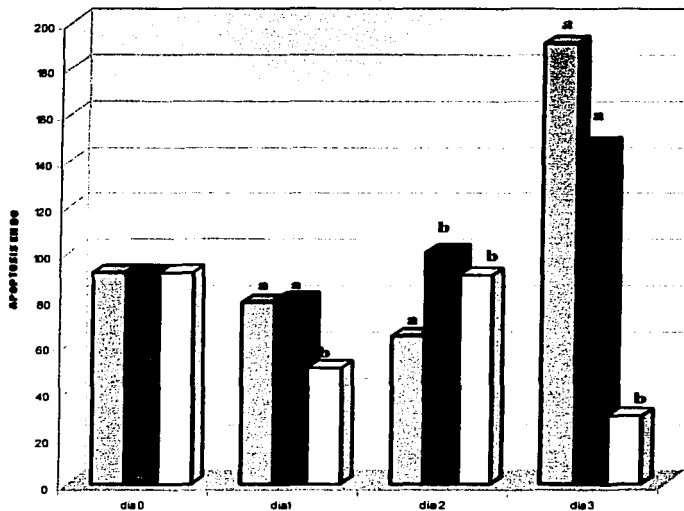
◆ Media  $\pm$  Desviación Estándar.

◆ Literales distintas señalan diferencia significativa entre los subgrupos ( $P < 0.05$ ).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



FIGURA 7.2: CUERPOS APOPTÓTICOS EN BC DE POLLOS DE ENGORDA



GRUPO	DIA 0 PI Media ± S <sup>1</sup>	DIA 1 PI Media ± S <sup>1</sup>	DIA 2 PI Media ± S <sup>1</sup>	DIA 3 PI Media ± S <sup>1</sup>
A-Testigo	91.76±24.02	79±18.73 a	64.28±13.03 a	190.84±87.09 a
B-Edgar	91.76±24.02	79.92±13.73 a	100.76±21.16 b	147.04±121.88 a
C-OGVP	91.76±24.02	50.44±11.33 b	90.56±96.57 b	29.6±9.74 b

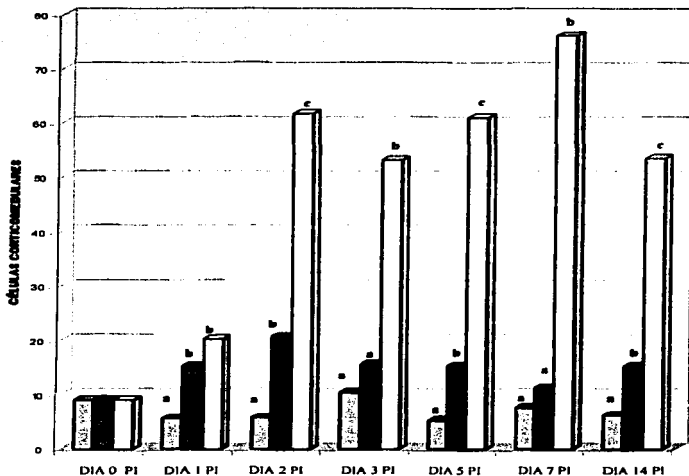
GRUPOS:  A-Testigo.  B-Edgar.  C-OGVP.

±<sup>1</sup> Media ± Desviación Estándar

♦ Literales distintas señalan diferencia significativa entre los subgrupos (P<0.05).

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

FIGURA 8.1: PORCENTAJE DE CÉLULAS CORTICOMEDULARES EN FOLIAS DE POLLOS ALPES



	DIA 0 PI	DIA 1 PI	DIA 2 PI	DIA 3 PI	DIA 5 PI	DIA 7 PI	DIA 14 PI
GRUPO	Medio ± S <sup>1</sup>	Medio ± S <sup>1</sup>	Medio ± S <sup>1</sup>	Medio ± S <sup>1</sup>	Medio ± S <sup>1</sup>	Medio ± S <sup>1</sup>	Medio ± S <sup>1</sup>
I-Testigo	8.98±0.75	5.58±1.58 a	5.70±1.08 a	10.41±3.70 a	5.23±2.37 a	7.54±3.01 a	8.24±1.40 a
II-Edgar	8.98±0.75	15.37±1.80 b	20.71±14.45 b	15.86±5.83 a	16.37±4.99 b	11.23±1.09 a	15.22±8.41 b
III-OGVP	8.98±0.75	20.28±7.75 b	61.68±7.39 c	83.16±15.05 b	61.02±2.86 c	76.08±7.11 b	53.54±8.08 c

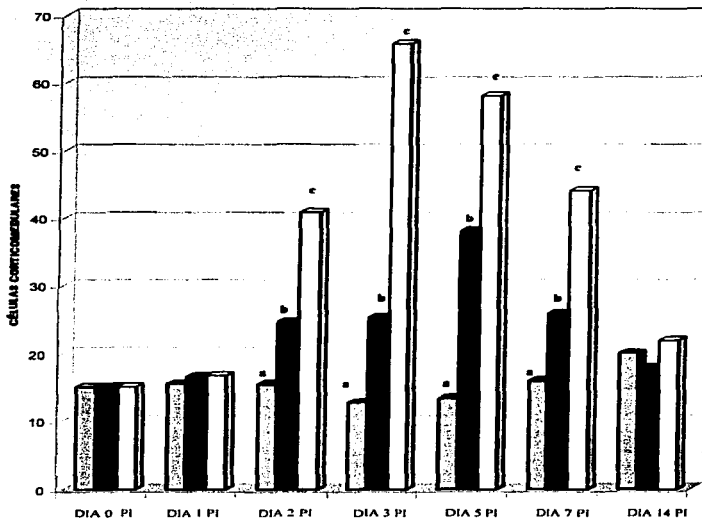
GRUPOS:  I-Testigo,  II-Edgar,  III-OGVP.

± <sup>1</sup> Media ± Desviación Estándar.

♦ Literales distintas señalan diferencia significativa entre los subgrupos (P < 0.05).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

FIGURA 8.2: PORCENTAJE DE CÉLULAS CORTICOMEDULARES EN FOLIAS DE POLLOS DE ENGORDA



	DIA 0 PI	DIA 1 PI	DIA 2 PI	DIA 3 PI	DIA 5 PI	DIA 7 PI	DIA 14 PI
GRUPO	Media ± S <sup>1</sup>	Media ± S <sup>1</sup>	Media ± S <sup>1</sup>	Media ± S <sup>1</sup>	Media ± S <sup>1</sup>	Media ± S <sup>1</sup>	Media ± S <sup>1</sup>
A-Testigo	15.15 ± 1.74	15.80 ± 2.16	15.49 ± 2.34 a	12.80 ± 2.48 a	13.46 ± 1.58 a	15.98 ± 1.55 a	20.09 ± 4.31
B-Edgar	15.15 ± 1.74	16.67 ± 4.44	24.68 ± 5.34 b	25.34 ± 6.03 b	38.08 ± 12.41 b	25.91 ± 6.22 b	17.87 ± 4.15
C-OGVP	15.15 ± 1.74	16.75 ± 4.21	40.85 ± 21.44 c	65.78 ± 10.86 c	58.04 ± 3.43 c	44.14 ± 17.85 c	22.02 ± 5.54

GRUPOS:  A-Testigo.  B-Edgar.  C-OGVP.

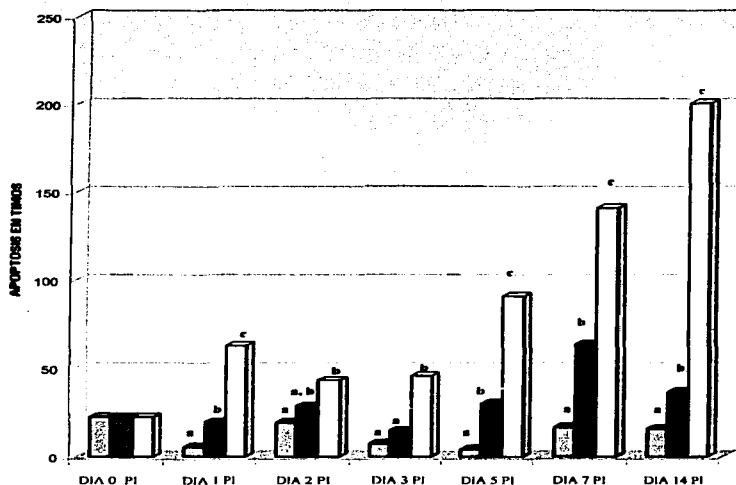
♦ <sup>1</sup> Media ± Desviación Estándar.

♦ Literales distintas señalan diferencia significativa entre los subgrupos (P < 0.05).

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

INSTITUTO VETEROINARIARIO  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FIGURA 9.1: CUERPOS APOPTÓTICOS EN CORTEZA TÍMICA DE POLLOS ALPES



	DIA 0 PI	DIA 1 PI	DIA 2 PI	DIA 3 PI	DIA 5 PI	DIA 7 PI	DIA 14 PI
GRUPO	Medio ± S <sup>1</sup>	Medio ± S <sup>1</sup>	Medio ± S <sup>1</sup>	Medio ± S <sup>1</sup>	Medio ± S <sup>1</sup>	Medio ± S <sup>1</sup>	Medio ± S <sup>1</sup>
I-Testigo	22.53±6.82	5.73±2.72 a	19.4±10.32 a	7.8±5.42 a	4.6±1.82 a	16.93±7.49 a	18±4.04 a
II-Edgar	22.53±6.82	19.8±5.14 b	28.93±18.88 a, b	14.93±9.70 a	30.2±4.30 b	63.53±10.88 b	38.88±16.84 b
III-OGVP	22.53±6.82	83.33±6.87 c	43.48±10.44 b	45.68±11.49 b	90.93±26.34 c	141.05±18.95 c	200.88±80.05 c

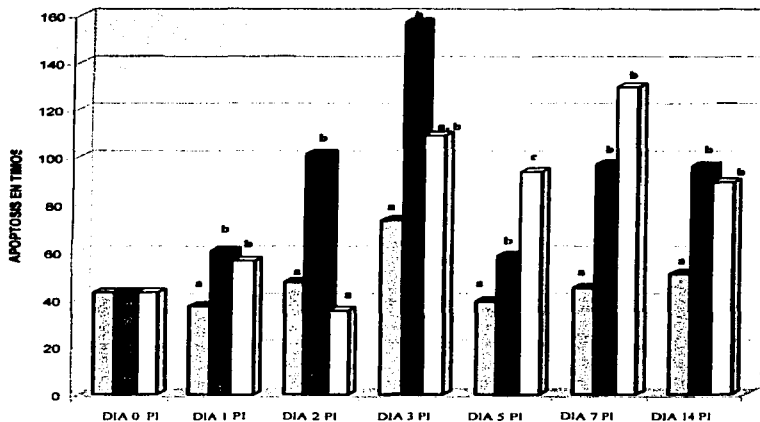
GRUPOS:  I-Testigo.  II-Edgar.  III-OGVP.

± Medio ± Desviación Estándar.

◇ Literales distintas señalan diferencia significativa entre los subgrupos (P<0.05).

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

FIGURA 9.2: CUERPOS APOPTÓTICOS EN CORTEZA TÍMICA DE POLLOS DE ENGORDA



GRUPO	DIA 0 PI	DIA 1 PI	DIA 2 PI	DIA 3 PI	DIA 5 PI	DIA 7 PI	DIA 14 PI
	Medio ± S <sup>1</sup>	Medio ± S <sup>1</sup>	Medio ± S <sup>1</sup>	Medio ± S <sup>1</sup>	Medio ± S <sup>1</sup>	Medio ± S <sup>1</sup>	Medio ± S <sup>1</sup>
A-Testigo	43.08±14.14	37.6±7.08 a	47.53±5.61 a	73.88±21.93 a	38.4±7.46 a	44.88±4.33 a	51.08±6.62 a
B-Edgar	43.08±14.14	60.88±10.39 b	101.53±20.47 b	157.13±60.98 b	60.88±10.70 b	97.13±34.98 b	98.6±14.61 b
C-OGVP	43.08±14.14	36.73±13.88 b	35.6±12.67 a	108.33±20.99 a,b	94±4.60 c	129.73±13.51 b	89.48±21.01 b

GRUPOS: □ A-Testigo. ■ B-Edgar. ▨ C-OGVP.

♦ <sup>1</sup> Medias ± Desviación Estándar.

♦ Literales distintas señalan diferencia significativa entre los subgrupos (P < 0.05).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN