



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA

EVALUACIÓN DE PATOGENICIDAD Y
VIRULENCIA DE UNA VACUNA COMERCIAL
CONTRA ANEMIA INFECCIOSA EN AVES CON
ANTICUERPOS MATERNOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A:

NADIA ROMERO GALLEGOS

ASESOR: Dr. NESTOR LEDESMA MARTÍNEZ



MÉXICO, D. F.

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

“Lo que sabemos es una gota de agua;
lo que ignoramos es el océano.”

Isaac Newton
Matemático y físico británico

“La posibilidad de realizar un sueño
es lo que hace que la vida sea interesante.”

Paulo Coelho
Escritor brasileño

“El mejor día es en el que el alma tiene hambre y sed.
No olvides lo aprendido, no dejes de comprender.
Rodéate de buenos y tú lo parecerás;
rodéate de sabios y algo en ti se quedará.”

Txus Di Fellatio
Baterista de Mägo de Oz

DEDICATORIA

A Dios

A mis papás, Martha y Angel

A mis hermanas, Marissa y Denisse

A Cerebra y Felipe[†]

Esperando a que se sientan muy orgullosos de ésta
“flaca” que los quiere mucho.

A todas las aves que involuntariamente dieron su
vida para la realización de este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por haberme dado la oportunidad de vivir y siempre estar a mi lado.

A mis papás por ayudarme, apapacharme, cuidarme y quererme, ya que sin su amor, ayuda y paciencia no habría llegado hasta aquí.

A mis hermanas por todo su cariño y apoyo, pero sobre todo por no dejarme caer y aguantar mi genio.

A Felipe[†] por haberme ayudado a elegir esta carrera. A Cerebra por alegrar mi vida todos los días.

A Karina, Mario y Laura por cruzarse en mi camino, por todas las cosas compartidas, sus palabras de aliento, y su amistad incondicional que con el paso de los años se va reforzando más y más.

A Raquel, Alfredo, Aarón y Ephraim, por sus muestras de cariño que me han animado en muchísimas ocasiones.

A Rolando, Linda, Musio y Ulises por toda su ayuda, por los ánimos a larga distancia, y por esos buenos momentos de algunos viernes por la tarde.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

A mi asesor, el Dr. Nestor Ledesma por haberme dado la oportunidad de trabajar y aprender mucho a su lado, por la motivación, la paciencia, y, sobre todo, por la gran persona que ha sido conmigo.

Al MVZ Gonzalo Salazar, al MVZ José Quesada y a Biomune de México.

A IDEXX Laboratories Inc. por la donación del kit de ELISA para anemia infecciosa.

A los miembros del jurado, MVZ Angel Retana, MVZ Francisco Basurto, MVZ Gary García y a la MVZ Xóchilt Hernández, por las aportaciones a este trabajo.

A todos los Doctores y personal del DPA: Aves (aún a quienes ya no están) por sus enseñanzas y compañerismo.

Y a todas aquellas personas que me han echado porras, animado y aconsejado en esto que es el inicio de un largo camino.

MUCHAS GRACIAS!!!!

CONTENIDO

	Página
DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTOS	III
CONTENIDO	IV
LISTA DE FIGURAS	V
LISTA DE TABLAS	V
LISTA DE GRÁFICAS	VI
LISTA DE ABREVIATURAS	VII
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
JUSTIFICACIÓN	21
HIPÓTESIS	22
OBJETIVO GENERAL	22
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
MATERIAL Y MÉTODOS	24
RESULTADOS	28
DISCUSIÓN	31
CONCLUSIÓN	35
REFERENCIAS	36

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Hematocrito 28 días experimento 1	41
Figura 2. Timo 28 días experimento 1	41
Figura 3. Bolsa de Fabricio 28 días experimento 1	41
Figura 4. Médula ósea 28 días experimento 1	41
Figura 5. Timo 14 días experimento 2	42
Figura 6. Bolsa de Fabricio 14 días experimento 2	42
Figura 7. Médula ósea 14 días experimento 2	43

LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Títulos de las pruebas de ELISA en aves ligeras con anticuerpos maternos contra CAV	44
Tabla 2. Peso en aves ligeras con anticuerpos maternos contra CAV	44
Tabla 3. Ancho del timo en aves ligeras con anticuerpos maternos contra CAV	45
Tabla 4. Tamaño de la bolsa de Fabricio en aves ligeras con anticuerpos maternos contra CAV	45
Tabla 5. Títulos de las pruebas de ELISA en pollo de engorda con anticuerpos maternos contra CAV	46
Tabla 6. Peso en pollo de engorda con anticuerpos maternos contra CAV	46
Tabla 7. Ancho del timo en pollo de engorda con anticuerpos maternos contra CAV	47
Tabla 8. Tamaño de la bolsa de Fabricio en pollo de engorda con anticuerpos maternos contra CAV	47

LISTA DE GRÁFICAS

	Página
Gráfica 1. Títulos de las pruebas de ELISA en aves ligeras con anticuerpos maternos contra CAV	48
Gráfica 2. Peso en aves ligeras con anticuerpos maternos contra CAV	48
Gráfica 3. Ancho del timo en aves ligeras con anticuerpos maternos contra CAV	49
Gráfica 4. Tamaño de la bolsa de Fabricio en aves ligeras con anticuerpos maternos contra CAV	49
Gráfica 5. Títulos de las pruebas de ELISA en pollo de engorda con anticuerpos maternos contra CAV	50
Gráfica 6. Peso en pollo de engorda con anticuerpos maternos contra CAV	50
Gráfica 7. Ancho del timo en pollo de engorda con anticuerpos maternos contra CAV	51
Gráfica 8. Tamaño de la bolsa de Fabricio en pollo de engorda con anticuerpos maternos contra CAV	51

LISTA DE ABREVIATURAS

AIP	Anemia infecciosa del pollo
ADN	Ácido desoxirribonucléico
AF	Anticuerpos fluorescentes
CAA	Chicken Anemia Agent (Agente de la anemia del pollo)
CAV	Chicken Anemia Virus (Virus de la anemia del pollo)
CO ₂	Dióxido de carbono
DICC ₅₀ /mL	Dosis infectante en cultivo celular 50% por mililitro
DPA:Aves	Departamento de Producción Animal: Aves
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (Inmunoensayo absorbente ligado a enzimas)
FMVZ	Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
G	Gravedades
Grupo A	Vacuna Agua de bebida
Grupo B	Vacuna punción en el ala
Grupo C	Testigo positivo (366)
Grupo D	Testigo negativo
H&E	Hematoxilina y Eosina
IBDV	Infectious Bursal Disease Virus (Virus de la infección de la bolsa de Fabricio)
IBH	Inclusion Body Hepatitis (Hepatitis con cuerpos de inclusión)
IgG	Inmunoglobulina G
IM	Intramuscular
kDa	Kilodaltones
LSCC-1104B1	Cultivo celular derivado de tumor de leucosis linfoide
MDCC-MSB1	Cultivo celular derivado de tumor de Marek cepa MSB1
MDCC-JP2	Cultivo celular derivado de tumor de Marek cepa JP2
MDV	Marek's Disease Virus (Virus de la enfermedad de Marek)
No.	Número
PBFDV	Psittacine Beak and Feather Disease Virus (Virus de la enfermedad del pico y las plumas de los psitácidos)
PCR	Polimerase Chain Reaction (Reacción en cadena de la polimerasa)
PCV	Porcine Circovirus (Circovirus porcino)
REV	Reticuloendotheliosis Virus (Virus de la reticuloendoteliosis)
RPMI	Medio del Roswell Park Memorial Institute
Sc	Subcutáneo
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México
VP1	Proteína viral 1
VP2	Proteína viral 2
VP3	Proteína viral 3
µL	microlitro

RESUMEN

ROMERO GALLEGOS NADIA. Evaluación de patogenicidad y virulencia de una vacuna comercial contra anemia infecciosa en aves con anticuerpos maternos. (Bajo la dirección del Dr. Nestor Ledesma Martínez)

Se conoce que algunos avicultores han intentado vacunar sus parvadas de 1 día de edad contra la anemia infecciosa del pollo; sin embargo, no existe un estudio serio en el cual se establezca que esta práctica es segura y que funcione para proteger a las aves, ya que, como se sabe, las aves menores de 4 semanas son muy susceptibles a la enfermedad. Los resultados de esta práctica no son consistentes y se han llevado a cabo de forma empírica, aún y cuando los boletines técnicos de cada vacuna indican que el uso de éstas en aves menores de 8 semanas de edad puede causar signos clínicos de anemia infecciosa aviar, por lo que es necesario determinar el efecto de la vacunación al día de edad en aves con anticuerpos. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue determinar el efecto de una vacuna comercial en dos presentaciones (una para aplicación en el agua de bebida y otra para aplicación por punción en la membrana del ala) contra la anemia infecciosa del pollo, en aves ligeras (experimento 1) y pollo de engorda (experimento 2) de 1 día de edad con anticuerpos maternos, para su uso potencial en aves comerciales. En cada experimento se emplearon 70 aves divididas en 4 grupos denominados como A (vacuna agua de bebida), B (vacuna punción en el ala), C (testigo positivo) y D (testigo negativo). En todos los grupos se registró el peso de las aves y se realizó la necropsia. Se obtuvieron muestras para los estudios de hematocrito, serología mediante la prueba de ELISA, e histopatología. Durante el período de observación de 28 días no se detectaron signos clínicos ni mortalidad en ninguna de las aves. La prueba de ELISA indicó una disminución en el título de anticuerpos, y todas las aves resultaron seronegativas a partir de la segunda semana de edad. Los valores de hematocrito estuvieron por encima de 27%, es decir, no se presentó anemia. En el peso no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. No se apreció atrofia de corteza del timo que indique efecto del virus. La relación corteza-médula no fue alterada. En cuanto a bolsa y médula ósea, el no encontrar lesiones, sugiere que no hubo replicación viral, lo cual refuerza los hallazgos clínicos y macroscópicos. En conclusión, los resultados del presente estudio muestran que la vacunación contra virus de anemia infecciosa al día de edad en aves con anticuerpos maternos no produce signos clínicos ni lesiones en los órganos linfoides y médula ósea; sin embargo, la disminución en el nivel de anticuerpos maternos llegando a ser negativo a la segunda semana de vida se considera riesgoso, ya que las aves se encuentran expuestas durante más tiempo ante los virus de campo.

Evaluación de patogenicidad y virulencia de una vacuna comercial contra anemia infecciosa en aves con anticuerpos maternos

INTRODUCCIÓN

La anemia infecciosa del pollo (AIP) es una enfermedad infecciosa viral que produce anemia e inmunodepresión en pollos jóvenes,¹ principalmente en aquellos menores de 4 semanas de edad.^{2, 3, 4} La enfermedad se caracteriza por anemia aplásica y atrofia linfoide generalizada junto con inmunodepresión, en consecuencia, AIP se encuentra a menudo complicada con infecciones virales, bacterianas o micóticas secundarias.^{1, 5}

Entre los diferentes nombres como se conoce al virus se encuentran “virus de la anemia del pollo”, “virus de la anemia infecciosa del pollo”, “agente de la anemia del pollo”, “chicken anemia agent o chicken anemia virus” (CAA o CAV, respectivamente).^{3, 6}

HISTORIA

El primer aislamiento del agente causal (cepa Gifu-I) se realizó en Japón en 1978 por Yuasa y colaboradores a partir de una vacuna contra la enfermedad de Marek contaminada con el agente de la retículoendoteliosis (REV) y de la anemia del pollo (CAV).^{2, 3, 4, 7} Los mismos investigadores, lograron un paso importante en 1983 al demostrar que el CAV no se replicaba en cualquiera de los cultivos celulares monostrato convencionales, y que era citopático para los cultivos de

ciertas líneas celulares linfoblastoides de pollo, por ejemplo, MDCC-MSB1 (MSB1).²

En México, Valle y Lucio en 1993 lograron dos aislados que compartieron características fisicoquímicas y serológicas descritas para el virus de anemia infecciosa y demostraron anticuerpos en reproductoras y pollos de engorda en Querétaro, Puebla, Hidalgo, Veracruz, Estado de México y Morelos.^{4, 8} Ledesma *et al* lograron el aislamiento del virus a partir de reproductoras pesadas y pollos de engorda, la replicación del cuadro clínico a partir de las cepas aisladas, así como la demostración del virus por microscopía electrónica e inmunoperoxidasa indirecta.^{3, 4} También demostraron anticuerpos contra el virus de anemia infecciosa en todos los estados con avicultura comercial,⁹ diferentes comportamientos del virus en desafíos en aves libres de patógenos específicos,¹⁰ además de la asociación con otros virus como el de la enfermedad de Newcastle y el de la infección de la bolsa de Fabricio, donde reportaron diferencias de patogenicidad, por lo que, probablemente, las observaciones de campo en cuanto a presentación, morbilidad y mortalidad tengan relación con éstas diferencias.¹¹

INCIDENCIA Y DISTRIBUCIÓN

El CAV es ubicuo en todos los principales países productores de pollo a nivel mundial. Se ha aislado de pollos en Japón, países europeos, EUA, Sudamérica, China, Australia, Nueva Zelanda y Sudáfrica. Además, se ha encontrado evidencia serológica de infección diseminada en sueros de pollo a partir de varios países de todo el mundo.²

En México, esta enfermedad fue reconocida como enzoótica en 1999 y se encuentra ampliamente diseminada en el país, presentándose brotes con mayor frecuencia.³

IMPORTANCIA

La enfermedad inducida por CAV es importante desde tres puntos de vista:

1. **INMUNOLÓGICO:** Induce inmunodepresión que predispone a la parvada a la infección por otros agentes, como virus respiratorios tales como coronavirus (bronquitis infecciosa) o paramixovirus (enfermedad de Newcastle) y otros virus inmunodepresores como el de la infección de la bolsa de Fabricio. También predispone a infecciones bacterianas por *E. coli* o *Clostridium* sp, o a infecciones micóticas. Por otra parte, se reporta una respuesta deficiente ante las vacunaciones, como por ejemplo contra la enfermedad de Marek, siendo quizá este el efecto más importante para la industria avícola.^{2, 4, 5, 12} Ya sea solo o en combinación con otros agentes, el CAV es importante por su potencial para inducir inmunodepresión.^{5, 13}
2. **ECONÓMICO:** La infección subclínica constituye un serio riesgo económico, en particular para la industria del pollo de engorda, ya que las pérdidas dan como resultado una conversión alimenticia más baja, las ganancias diarias de peso se ven reducidas,¹⁴ los pollos presentan diferentes pesos, mal emplume y pigmentación. Las pérdidas por bajo rendimiento llegan a ser hasta de 13%. En estos casos las aves no muestran signos de enfermedad, pero los parámetros productivos se ven alterados.^{4, 15} Todo esto se traduce en un

aumento en los costos de producción y decomisos, lo que conlleva a sustanciales pérdidas económicas para las compañías y productores.^{5, 16, 17}

3. ENFERMEDAD CLÍNICA. La forma clínica de la enfermedad resulta en pérdidas de peso en pollos de engorda⁵ e incremento de la mortalidad en aves menores de 6 semanas, las cuales se han reportado que van desde el 10 y 20%, y en algunas ocasiones hasta del 60%, sobre todo en asociación con otras enfermedades.^{4, 16}

Los resultados de las pruebas serológicas, sugieren que el virus no tiene importancia en cuanto a salud pública.²

ETIOLOGÍA

El CAV ha sido caracterizado como un virus pequeño de 23-25 nm.¹⁷ Contiene ADN desnudo de una sola cadena de sentido negativo, ligado de manera covalente, circular. La forma replicativa del genoma viral comprende de 2298 a 2319 pb, dependiendo de la presencia o ausencia de 4 a 5 repeticiones de 21 pb. Presenta varios segmentos de lectura abierta que codifican tres proteínas: una de 50.6 kDa (VP1), siendo esta la principal proteína de la cápside; otra de 24 kDa (VP2) la cual participa durante el ensamblaje de los nuevos viriones; y la última de 13.6 kDa (VP3 o apoptina), la cual se relaciona con las células infectadas, ya que es un fuerte inductor de la apoptosis en timocitos de pollo y líneas celulares linfoblastoides de pollo, así como de varias líneas celulares linfoblastoides de humanos.^{2, 3, 18}

Actualmente se conoce que el agente de la anemia infecciosa (CAV) ha sido clasificado en una nueva familia de virus, denominada *Circoviridae*.¹⁸ Sin embargo, no está relacionado con los circovirus porcinos (PCV), ni con el virus de la enfermedad del pico y plumas de los Psitácidos (PBFDV).² Con base en las diferencias moleculares que existen entre el CAV y los otros circovirus clasificados, se aceptó el género Gyrovirus, dentro de la familia de los circovirus, para lo cual se asignó al virus de la anemia infecciosa como la única especie.^{12, 18,}

19

Replicación viral

El virus transmitido verticalmente se replica en dos sitios: en los precursores hematopoyéticos de la médula ósea y en los precursores de las células T del timo donde se ha demostrado que origina muerte celular mediante apoptosis.²⁰ Atraviesa la membrana celular mediante adsorción y penetración convencionales.

Resistencia a agentes físicos y químicos

Por ser un virus desnudo, es resistente a los solventes orgánicos como éter o cloroformo, temperaturas de 56°C a 70°C por 1 hora. También resiste el tratamiento con acetona al 90% por 24 h, aunque puede ser inactivado si se expone al fenol al 50% por 5 minutos.^{2, 3, 18}

Los desinfectantes comerciales con base en detergentes invertidos, detergentes anfotéricos u ortodichlorobenceno no resultan eficaces en contra del CAV. Los tratamientos con yodo o hipoclorito resultan adecuados, pero requieren dos horas a 37 °C con concentraciones finales de 10%, en vez de las concentraciones

generalmente recomendadas de 2%. La fumigación por 24 horas con formaldehído u óxido de etileno no inactivan por completo al CAV. Aunque el virus de la anemia infecciosa aviar es resistente al calentamiento a 56 o 70 °C durante una hora y a 80 °C durante 15 minutos, sólo resulta parcialmente resistente al calentamiento a 80 °C durante 30 minutos y se inactiva de manera total en 15 minutos a 100 °C. La inactivación de este virus en los subproductos de pollos infectados requiere de una temperatura central de 95 °C por 35 minutos o de 100 °C durante 10 minutos.²

Patogenicidad

La patogenicidad del virus está influenciada por la edad y vía de infección, siendo las aves muy susceptibles al día de edad o las infectadas por vía vertical.²¹ Se ha informado de la atenuación del virus de la anemia infecciosa de pollo por pasajes seriados en cultivo celular; y es posible que se correlacione una disminución en la infectividad y en la inmunogenicidad *in vivo* con la atenuación.²

Huéspedes naturales y experimentales

El pollo es el único huésped conocido para el CAV. Resultan susceptibles a la infección todas las edades, pero la susceptibilidad a la enfermedad disminuye rápidamente en pollitos inmunológicamente intactos durante las primeras tres semanas de edad. En sueros de pavo o pato no se han detectado anticuerpos contra el CAV. Los pavipollos inoculados al día de edad con altas dosis del virus, resultaron resistentes a la infección y no desarrollaron anticuerpos hacia el CAV.²

MORBILIDAD Y MORTALIDAD

El resultado de la infección por el CAV, se encuentra influenciado por una cantidad de factores del virus, el huésped y el ambiente. La anemia infecciosa sin complicaciones, en especial aquella ocasionada mediante infección horizontal, puede resultar en algo no mayor que una mortalidad aumentada de manera ligera y un bajo desempeño pasajero de las parvadas afectadas, y por tanto, podría pasar desapercibida en los ambientes comerciales.²

Los anticuerpos maternos contra el CAV, confieren una protección casi total en contra de la enfermedad. No obstante, la resistencia debida a la inmunidad pasiva puede ser superada por lo menos en parte, en caso de que los pollitos se encuentren inmunodeprimidos, por ejemplo en el caso de otras infecciones virales. La morbilidad y la mortalidad pueden ser influenciadas por la virulencia de la cepa del CAV.²

Al mismo tiempo, la vía de infección tiene una función en la infección experimental dado que la infección por contacto no origina, por lo general, anemia en aquellos pollitos inmunológicamente intactos, en contraste con la situación en las aves inmunocomprometidas. Para inducir la enfermedad, las vías de infección oral, nasal u ocular resultan mucho menos eficaces que la inoculación parenteral.²

En pollitos inmunocompetentes, se desarrolla con rapidez la resistencia por edad durante la primera semana de vida y se completa alrededor de las tres semanas o aún antes, dependiendo de la virulencia de la cepa del CAV infectante.²

La mortalidad aumenta de manera considerable, en caso de que los pollitos se encuentren infectados de manera dual con el CAV y virus de la enfermedad de

Marek (MDV), virus de la reticuloendoteliosis (REV) o virus de la infección de la bolsa de Fabricio (IBDV), probablemente a causa de la inmunodepresión inducida por estos virus.²

TRANSMISIÓN

El CAV se transmite tanto de manera horizontal como vertical. Se considera que la transmisión a través del huevo incubable es el medio más importante de diseminación, siendo la causa primaria de anemia en aves jóvenes. La transmisión por el huevo ocurre desde 8-14 días después de la infección de la gallina y a nivel de campo esta se presenta por un periodo de 9 semanas. La infección del embrión también puede originarse por semen de gallos infectados.²

El virus se encuentra en grandes concentraciones en las heces de pollos por 5 a 7 semanas luego de la infección. Es más probable que la infección horizontal por contacto directo o indirecto se desarrolle por la vía oral, pero en el campo también podría ser posible la infección a través de la vía respiratoria. El CAV se disemina con facilidad entre pollos en un grupo. En el campo, la seroconversión en las parvadas expuestas de manera natural al CAV ocurre de 2 a 4 semanas en la mayor parte de las aves. La infección horizontal por contacto directo o indirecto no causa la enfermedad aún en aves jóvenes con anticuerpos, siempre y cuando no estén inmunodeprimidas.²

PERIODO DE INCUBACIÓN

En infecciones experimentales, se pueden detectar anemia y lesiones histológicas distintivas a los 8 días luego de la inoculación parenteral del virus. Los signos clínicos se desarrollan, por lo general, después de 10 a 14 días y la mortalidad comienza a los 12 a 14 días luego de la inoculación. Sin embargo, pueden ser más de 14 a 21 días antes de que se manifieste la anemia, dependiendo de la línea genética de los pollitos experimentales y de las propiedades de la cepa viral inoculada. En condiciones de campo, los pollitos infectados de manera congénita muestran signos clínicos y el inicio de una mayor mortalidad de los 10 a 12 días de edad, con un máximo a los 17 a 24 días. En las infecciones de grupo muy fuertes, puede haber un segundo pico de mortalidad a los 30 a 34 días, probablemente debido a la infección horizontal.²

PATOGENESIS

La patogénesis de la infección por el CAV se ha deducido mediante estudios histopatológicos, ultraestructurales e inmunocitoquímicos secuenciales. De los hallazgos morfológicos, se concluyó que se encuentran implicados de manera primaria los hemocitoblastos en la médula ósea y los linfoblastos en la corteza del timo en la infección citolítica temprana a los 6 a 8 días posinoculación.²

Estudios inmunocitoquímicos, demostraron que el CAV se replica en los linfoblastos de la corteza del timo, los hemocitoblastos intrasinoidales y extrasinoidales y en las células reticulares. También se han detectado en el bazo antígenos contra el CAV en linfocitos T maduros.²

En el timo y en la médula ósea, las células infectadas son más abundantes a los 6 a 7 días posinfección²² y pueden detectarse hasta los 10 a 12 días o aún más tarde. La infección del proventrículo, parte ascendente del duodeno, riñón y pulmón puede aportar una explicación para la diseminación del virus. En estos tejidos, por lo general, no se pueden detectar las células infectadas por más de 22 días después de la infección al día de edad, aunque el virus puede persistir en los tejidos hasta por 28 días y en el contenido rectal hasta por 49 días o más.²

Se ha comunicado que la susceptibilidad de los pollitos a la infección por el CAV depende de las propiedades de las células precursoras del timo durante el desarrollo pre y posnacimiento. A pesar de que el CAV cuenta con un tropismo por el tejido linfoide, en particular por la corteza del timo, la susceptibilidad de los timocitos o de las células del bazo es independiente de la expresión de ciertos marcadores celulares como CD4 o CD8. Sin embargo, existe una disminución transitoria de los linfocitos CD4.²

SIGNOS CLÍNICOS

Uno de los signos de la infección por el CAV, es la anemia, con un máximo a los 14 a 16 días posinoculación. Dicha anemia se caracteriza por valores de hematocrito de 6 a 27%; las aves afectadas se encuentran deprimidas y más o menos pálidas. La ganancia de peso se deprime dentro de los días 10 a 21,¹ luego de la infección experimental; entre los días 12 a 28 posinoculación pueden morir las aves afectadas. En caso de que se manifieste mortalidad, ésta no excede de 30 %. Los pollitos sobrevivientes se recuperan por completo de la depresión y la

anemia alrededor de los 20 a 28 días posinoculación,⁴ aunque la recuperación tardía y la mayor mortalidad pueden relacionarse con infecciones bacterianas o virales secundarias. En los casos de campo se observan con frecuencia infecciones secundarias que originan signos clínicos más graves, pero pueden desarrollarse de manera inadvertida en pollitos experimentales.²

LESIONES MACROSCÓPICAS

Los animales presentan anemia aplásica. La susceptibilidad a infecciones por virus, bacterias y hongos está marcadamente aumentada en pollos con anemia infecciosa, lo cual frecuentemente resulta en una variedad de enfermedades multifactoriales, como el síndrome hemorrágico, dermatitis gangrenosa o hepatitis con cuerpos de inclusión (IBH) asociada con anemia aplásica.^{3, 18, 20}

La lesión más característica observada en pollos afectados es la atrofia de timo y de médula ósea. La médula ósea del fémur se encuentra grasosa y amarillenta o rosada. La atrofia del timo puede resultar en una regresión casi total del órgano, el cual tiene entonces un color pardo rojizo oscuro. Ya que los pollitos infectados desarrollan resistencia con la edad, la atrofia del timo puede convertirse en una lesión más consistente que las lesiones de la médula ósea observables a simple vista. La atrofia de la bolsa de Fabricio resulta menos evidente. En una pequeña proporción de aves, la bolsa puede encontrarse reducida de tamaño, y en muchos casos, la pared externa de ésta puede aparecer traslúcida. Las hemorragias subcutáneas y musculares, en la mucosa del proventrículo e hígado se relacionan a veces con anemia grave. También se ha informado de hemorragias más

notables o de atrofia de la bolsa y de lesiones en otros tejidos, pero es probable que se relacionen con infecciones secundarias debidas a otros agentes.^{2, 20}

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico está basado en los signos clínicos, la presencia de anemia y las lesiones macro y microscópicas. El diagnóstico puede ser confirmado por el aislamiento del virus o la detección del antígeno viral o del ADN en el timo o médula ósea.^{2, 4} Otras opciones son las técnicas de hibridación *in situ*, reacción en cadena de la polimerasa, microscopía electrónica e inmunoperoxidasa. Se pueden detectar anticuerpos contra el virus de la anemia infecciosa en suero o yema mediante neutralización viral, inmunofluorescencia indirecta y ELISA.^{3, 4}

Histopatología

Los cambios histopatológicos en los pollitos anémicos se han caracterizado como panmieloptisis y atrofia linfoide generalizada. En la médula ósea, la atrofia y la aplasia implican a todos los compartimentos y líneas hematopoyéticas. De manera ocasional, se puede observar necrosis de pequeños focos celulares residuales. Las células hematopoyéticas son reemplazadas por tejido adiposo o células del estroma proliferantes. Luego de la infección experimental, en aquellas aves que se recuperan aparecen zonas de regeneración que consisten de proeritroblastos a los 16 a 18 días, y existe una hiperplasia de la médula ósea entre los días 24 y 32 posinoculación. Se observa intensa depleción linfoide en timo, bolsa de Fabricio, bazo y tonsilas cecales, así como en una variedad de otros tejidos. La corteza y la médula del timo se atrofian por igual, con degeneración hidrópica de las células

residuales y de focos necróticos residuales. En los pollitos que se recuperan, se puede distinguir la repoblación del timo con linfocitos a los 20 a 24 días y la morfología retorna a la normalidad después de 32 a 36 días luego de la infección.^{2,}

21

Las lesiones en la bolsa de Fabricio consisten de atrofia de los folículos linfoides con pequeños focos necróticos ocasionales, epitelio invaginado, degeneración epitelial hidrópica y proliferación de las células reticulares. La repoblación por los linfocitos hasta la recuperación total, es similar a la del timo. En el bazo se observa atrofia del tejido linfoide con hiperplasia de las células reticulares en los folículos linfoides.^{2, 21}

Se han detectado pequeñas inclusiones nucleares eosinofílicas en las grandes células alteradas de los tejidos afectados, de manera predominante en el timo y la médula ósea, donde se encuentra con mayor frecuencia a los 5 a 7 días después de la infección experimental.^{2, 6, 21}

Hematología

La sangre de los pollitos afectados con intensidad se encuentra más o menos acuosa,¹⁶ es mayor el tiempo de coagulación y el plasma sanguíneo es más pálido de lo normal. Los valores del hematocrito empiezan a caer por debajo de 27% a los 8 a 10 días luego de la inoculación, casi todos en el intervalo de 10 a 20% a los 14 a 20 días y aun llegar a 6% en aquellas aves moribundas. En los pollitos convalecientes, los valores del hematocrito aumentan luego de los 16 a 21 días y regresan a lo normal (29 a 35 %) alrededor de los 28 a 32 días posinfección.²

En aquellos pollos infectados con el CAV, los valores disminuidos del hematocrito se deben a pancitopenia, con un notable decremento en la cantidad de eritrocitos, leucocitos y trombocitos. Se ha observado anisocitosis tan temprano como a los ocho días posinfección. En sangre periférica, luego de 16 días de la inoculación, empiezan a aparecer formas juveniles de eritrocitos, granulocitos y trombocitos, y varios días después, la incidencia de eritrocitos inmaduros puede ser mayor a 30%.²

Aislamiento e identificación

El CAV puede aislarse de casi cualquier tejido de las aves infectadas, con títulos virales máximos detectados a los siete días después de la infección, pero presenta algunas dificultades ya que no produce lesiones en embrión de pollo, no hemaglutina y no produce efecto citopático en cultivos celulares convencionales de monocapa. Únicamente se puede multiplicar en pollos de un día sin anticuerpos y cultivos celulares específicos.^{2, 6} En pollos inoculados al día de edad, la presencia del virus en los tejidos y heces permanece casi constante hasta por 21 días y de ahí en adelante declina con rapidez. Sin embargo, el suero pierde su infectividad luego de 14 días.²

Para fines de aislamiento, el hígado es la muestra que se utiliza con más frecuencia por su tamaño, ya que los timos son pequeños debido a la atrofia. El método disponible más específico para el aislamiento primario del CAV, consiste en el bioensayo mediante la inoculación intramuscular o intraperitoneal de pollitos susceptibles de un día de edad. Los pollitos se examinan ya sea a los 14 a 16

días o en los días 14 y 21 después de la inoculación, en busca de anemia, como lo indicaría un valor de hematocrito menor a 27% y en busca de atrofia de médula ósea. Dado que en los embriones no produce lesiones, ni se propaga en cultivos de células renales ni fibroblastos, se prefiere el cultivo celular en líneas MDCC-MSB1 y MDCC-JP2 que son derivadas de tumores de bazo con enfermedad de Marek, o línea LSCC-1104B1 que deriva de tumores de leucosis linfóide. En las células MDCC-MSB1, el efecto citopático se manifiesta por hinchazón celular, lisis celular y conglomeración de células.^{2,3}

Marcadores virales en tejidos

Detección mediante anticuerpos

Puede demostrarse la infección viral en pollos por medio de las tinciones de inmunofluorescencia o inmunoperoxidasa. Para las pruebas de diagnóstico, por lo general se prefiere al timo, obtenido a los 7 a 12 días después de la infección. Los frotis por impresión de tejido y los cortes por criostato, fijados con acetona, se utilizan para tinción por inmunofluorescencia ya sea indirecta o directa, utilizando suero hiperinmunitario policlonal de pollo o conejo, o anticuerpos monoclonales hacia el CAV. Las pruebas de inmunoperoxidasa se desarrollan con cortes en parafina y fijados con formol.²

Sondas ADN

Se ha descrito la detección del CAV en cortes de timo parafina y fijados en formol, mediante hibridación *in situ* utilizando una sonda ADN biotinilada y preparada por medio de PCR.²

PCR (Reacción en cadena de la polimerasa)

En varios laboratorios se ha desarrollado PCR para la detección del ADN del CAV en células MSB1 infectadas, tejidos de pollo o vacunas. La prueba demuestra ser específica y definitivamente más sensible que el aislamiento por cultivo celular del virus. Sin embargo, se logra una sensibilidad muy elevada con una PCR anidado. PCR es más valiosa para propósitos de investigación y se espera que se convierta en el método preferido para detectar contaminación en las vacunas por virus de la anemia infecciosa del pollo.²

Microscopia electrónica

Las partículas del virus de la anemia infecciosa del pollo pueden encontrarse en preparaciones muy purificadas de los cultivos celulares infectados. Sin embargo, resultan difíciles de detectar y no se les identifica con precisión en los cortes ultradelgados de las células cultivadas infectadas o de tejidos de pollo.²

Serología

Pruebas de neutralización de virus

En la prueba de neutralización de virus, se mezclan a partes iguales, diluciones seriadas dobles de suero o yema con una suspensión del CAV, que contiene 200 a 500 dosis infectantes de cultivos de tejido.² Este método es lento debido a que requiere de varios pases en cultivo celular y por otra parte algunos virus no se adaptan al cultivo.¹⁶

Pruebas de anticuerpos fluorescentes (AF)

En la prueba indirecta de anticuerpos fluorescentes se ponen células MSB1 infectadas con el CAV, obtenidas justo antes del inicio de la lisis celular, en portaobjetos y fijados en acetona, por lo general, 36 a 42 horas luego de la inoculación, para utilizarse como antígenos. Las células se hacen reaccionar primero con suero de prueba diluido apropiadamente y entonces con un antisuero de mamífero marcado con fluoresceína en contra de IgG de pollo. Se considera evidencia de anticuerpos en el suero prueba, la tinción fluorescente de gránulos más bien pequeños de forma irregular en el núcleo de las células. Este patrón de inmunofluorescencia se considera como típico de las pruebas con anticuerpos CAV neutralizantes.²

Inmunoensayos enzimáticos

Por lo general, la prueba de ELISA resulta más sensible que la neutralización del virus y las pruebas de AF indirectas, y por lo menos resulta tan específica como la prueba AF indirecta.² Por otra parte, permite manejar un número considerable de sueros en poco tiempo.

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

El diagnóstico diferencial se hace con Gumboro (IBDV) y Marek (MDV). Lo que sí es definitivo es que hay afectación de timo y de la médula ósea en anemia infecciosa.²⁰

Una anemia aplásica, pero no una pancitopenia, con atrofia del timo y bolsa de Fabricio concurrente y menor respuesta inmunitaria puede ser originada también por el virus de la osteopetrosis. La anemia inducida por el virus de la eritroblastosis puede diferenciarse de la anemia inducida por el CAV mediante el examen microscópico de impresiones de sangre. Tanto MDV como IBDV, inducen atrofia de los tejidos linfoides con lesiones histológicas típicas, pero no origina anemia en pollos infectados de manera natural.³ La anemia aplásica que pudiera relacionarse con IBDV aguda se desarrolla y desaparece mucho más temprano que la anemia inducida por elCAV. Los adenovirus constituyen una causa principal de un síndrome de hepatitis con cuerpos de inclusión-anemia aplásica, que se manifiestan con mayor frecuencia entre las 5 y 10 semanas de edad. La intoxicación con sulfas o micotoxinas pueden producir anemia aplásica y

síndrome hemorrágico, pero se requieren de altas dosis para producir este cuadro.^{2, 4}

TRATAMIENTO

No existe algún tratamiento específico para los pollos afectados por la infección por el CAV. Podría indicarse el tratamiento con antibióticos de amplio espectro para controlar las infecciones bacterianas, que por lo general se relacionan la anemia infecciosa del pollo.²

PREVENCIÓN Y CONTROL

Para su profilaxis y control actualmente se aplican dos tipos de vacunas vivas comerciales: vacuna de virus vivo en el agua de bebida, y vacuna de virus vivo atenuado administrado por vías parenterales (IM, SC o punción en la membrana del ala).^{23, 24} Se da una dosis en reproductoras sobre las 3-4 semanas antes de la puesta, pero nunca más allá de este tiempo con el fin de evitar el riesgo de diseminación del virus vacunal por medio del huevo. De esta forma se pretende que el virus de la anemia infecciosa del pollo no origine inmunosupresión en aves de esa edad y se evite la transmisión vertical.² Se espera que los anticuerpos de las reproductoras protejan a la progenie durante las 3 primeras semanas de vida.²⁰ Básicamente, esta es una infección premeditada, con un virus conocido y a un tiempo determinado.² En las reproductoras, la respuesta ante las vacunaciones induce seroconversión en casi el 100% de las aves, sin embargo, la transmisión de anticuerpos maternos no es homogénea ni predecible. Las vacunas han sido desarrolladas para su uso en las reproductoras, pero han sido observados brotes

en campo en la progenie (pollos de 1 día de edad) aún en presencia de anticuerpos maternos, por lo que es necesario explorar la posibilidad de vacunar a la progenie contra la enfermedad.²

JUSTIFICACIÓN

Se conoce que algunos avicultores han intentado vacunar sus parvadas de 1 día de edad; sin embargo, no existe un estudio serio en el cual se establezca que esta práctica es segura y que funcione para proteger a las aves contra la enfermedad ya que, como se sabe, las aves menores de 4 semanas son muy susceptibles a la enfermedad. Los resultados de esta práctica por parte de los avicultores no son consistentes y se han llevado a cabo de forma empírica,² aún y cuando los boletines técnicos de cada vacuna indican que el uso de éstas en aves menores de 8 semanas de edad puede causar signos clínicos de anemia infecciosa aviar,^{23,} ²⁴ por lo que es necesario determinar el efecto de la vacunación al día de edad en aves con anticuerpos.

HIPÓTESIS

1. Si se ha demostrado que la vacuna contra anemia infecciosa es inocua para las aves cuando se aplica a las 13 semanas de edad, entonces La vacuna de anemia infecciosa no inducirá ningún efecto patológico ni afectará el desarrollo de las aves ligeras y pollo de engorda de un día de edad con presencia de anticuerpos maternos contra el virus de la AIP.
2. Si se ha demostrado que la vacuna contra anemia infecciosa aplicada en aves de 13 semanas de edad no disminuye el título de anticuerpos, entonces la vacuna contra la AIP no disminuirá el título de anticuerpos maternos en aves ligeras y pollo de engorda de 1 día de edad.

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de dos vacunas comerciales de anemia infecciosa del pollo cepa Del Rose en aves ligeras y pollo de engorda de 1 día de edad con anticuerpos maternos, a través de exámenes serológicos, hematológicos y anatomopatológicos, para identificar cambios por vacunación.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Determinar los títulos de anticuerpos en aves ligeras y pollo de engorda con anticuerpos maternos vacunadas al día de edad, a través de la prueba de ELISA, para identificar cambios por vacunación.
- 2) Determinar la condición del timo, bolsa de Fabricio y médula ósea en aves ligeras y pollo de engorda con anticuerpos maternos vacunadas al día de edad, a través de los exámenes histopatológico y morfométrico para identificar cambios por vacunación.
- 3) Determinar el volumen de glóbulos rojos en aves ligeras y pollo de engorda con anticuerpos maternos vacunadas al día de edad, a través del hematocrito para identificar cambios por vacunación.
- 4) Determinar los parámetros productivos en aves ligeras y pollo de engorda con anticuerpos maternos vacunadas al día de edad, a través de la evaluación del peso, mortalidad y uniformidad para identificar cambios por vacunación.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Experimento 1 Determinación del efecto del virus en aves ligeras

ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN. Se emplearon 70 aves ligeras Leghorn de 1 día de edad, las cuales se alojaron en las unidades de aislamiento del DPA: Aves de la FMVZ UNAM. Se dividieron en 5 grupos: un grupo inicial de 10 aves y 4 grupos de 15 aves; estos últimos denominados como A, B, C y D, los cuales recibieron alimento comercial y agua a libre acceso. Se registró el % de mortalidad.

INÓCULO. Se emplearon dos vacunas comerciales para anemia infecciosa, una para aplicación en el agua de bebida y otra para aplicación por punción en el ala y un aislamiento de campo muy virulento obtenido en el DPA: Aves (denominados A, B y C, respectivamente). Se llevó a cabo la titulación en cultivo celular para determinar el estado de las vacunas y para ajustar el virus de campo a una dosis 10^5DICC_{50} .

TITULACIÓN DE VIRUS. A partir de las vacunas y el virus de campo, se procedió a la titulación viral mediante la técnica de Yuasa *et al*²⁵ con las siguientes modificaciones: A partir del inóculo original al 20%, se llevaron a cabo diluciones décuples seriadas hasta 10^{-11} en medio RPMI. Con cada dilución fueron inoculados cultivos celulares MDCC-MSB1 en microplaca de 96 pozos, a razón de 100 μL por pozo; en cada pozo fueron depositados además 100 μL de una suspensión de células MSB1 a 0.5×10^6 células/mL. Fueron usados 5 pozos por dilución y se dejaron 3 pozos sin inocular como testigos negativos. Los cultivos así inoculados fueron incubados a 40°C con 5% de CO_2 . Se llevaron a cabo pases

cada 48 h transfiriendo 100 μ L de cada pozo a 100 μ L de medio RPMI fresco. El número total de pases fue de 10. Se consideraron como positivos aquellos pozos en los que se observó efecto citopático y las células perdieron la capacidad de seguirse multiplicando con un color rosa en el medio de cultivo, y negativos aquellos pozos con células sanas y un medio color amarillo. Posteriormente, el título fue calculado mediante la técnica de Reed & Muench y expresado como $DICC_{50}/mL$.

DISEÑO EXPERIMENTAL. Se tomaron 10 aves al azar antes de iniciar el experimento para formar el grupo inicial, del cual se obtuvieron muestras de suero para verificar la presencia de anticuerpos maternos mediante la técnica de ELISA. Los grupos A y B recibieron las vacunas por la vía y dosis indicadas por el fabricante, mientras que el grupo C recibió por vía intramuscular 200 μ L de inóculo. El grupo D sólo recibió 200 μ L de agua inyectable como testigo negativo. Se observaron durante 28 días, en los cuales se registraron signos y mortalidad. A los 14 y 28 días se sacrificaron 10 y 5 pollos respectivamente de cada grupo para la necropsia y toma de muestras. El método de sacrificio fue por sobredosis de ketamina de acuerdo a la NOM-033-ZOO-1995.²⁶

Se obtuvieron muestras para realizar los siguientes estudios:

➤ **HEMATOCRITO**

De los grupos A, B, C y D se obtuvo sangre para realizar la técnica de microhematocrito en tubos capilares heparinizados, los cuales fueron centrifugados a 12, 000 G durante 5 minutos.²⁷ Las aves se consideraron anémicas cuando presentaron un hematocrito menor a 27%.²

➤ SEROLOGÍA

Para la detección de la presencia de anticuerpos maternos en las aves, a partir de los sueros obtenidos se realizó la prueba de ELISA al grupo inicial de 10 aves, así como también a los 4 grupos denominados como A, B, C y D para determinar el comportamiento de la curva de anticuerpos.

El procedimiento se llevó a cabo de acuerdo a las indicaciones del fabricante (IDEXX Laboratories, Inc.). La obtención de los títulos de anticuerpos se realiza mediante el software incluido en el kit de ELISA, a partir de las densidades ópticas y las siguientes fórmulas:

Promedio para el control negativo (CNx)	$(A(650) \text{ pozo A1} + A(650) \text{ pozo A2}) / 2$
Promedio para el control positivo (CPx)	$(A(650) \text{ pozo A3} + A(650) \text{ pozo A4}) / 2$
Cociente M/N	$(A(650) \text{ de la muestra}) / \text{CNx}$

Donde:

A(650): absorbancia a 650 nm
Pozos A1 y A2: Controles negativos
Pozos A3 y A4: Controles positivos

➤ NECROPSIA

Se registró el peso de las aves previamente a la necropsia, la cual se llevó a cabo mediante la técnica establecida por Perusquia y Paasch.²⁸

Se realizó la evaluación del tamaño de los timos (ancho) y la bolsa de Fabricio medidos con un vernier, así como también el aspecto de la médula ósea por medio de la inspección visual de los tibiotarsos divididos a través de su eje longitudinal.²⁸

➤ HISTOPATOLOGÍA

Se obtuvieron muestras de timo, bolsa de Fabricio y médula ósea en formalina buferada al 10%. Se tomaron secciones de éstos órganos de 5 mm de espesor que fueron fijadas en formalina durante 24 horas para su procesamiento con la técnica de inclusión en parafina y tinción de hematoxilina-eosina (H&E).²⁹

En el estudio histopatológico se llevó a cabo la medición con una microescala ocular de la relación corteza-médula y el espesor de la corteza.

Los pesos, hematocrito, medidas del timo, diámetro de la bolsa de Fabricio y espesor de la corteza tímica de los pollos se compararon mediante análisis de varianza con significancia 0.05 y la proporción de lesiones mediante prueba de Kruskal-Wallis con significancia 0.05.

Experimento 2 Determinación del efecto del virus en pollo de engorda

ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN. Se emplearon 70 aves pesadas Ross de 1 día de edad, las cuales fueron alojadas en las unidades de aislamiento del DPA: Aves de la FMVZ UNAM. Se dividieron en 5 grupos: un grupo inicial de 10 aves y 4 grupos de 15 aves; estos últimos denominados como A, B, C y D, los cuales recibieron alimento comercial y agua a libre acceso. Se registró el peso de cada ave.

El inóculo, diseño experimental y las muestras obtenidas fueron los mismos que en el experimento 1, agregando la evaluación de peso y % de uniformidad.

RESULTADOS

Experimento 1.

Los resultados de la prueba de ELISA para la determinación de anticuerpos contra virus de anemia infecciosa en las aves del grupo inicial, indicaron que las aves fueron positivas a anticuerpos, con un título medio geométrico de 6361, coeficiente de variación de 33.8 %. Siendo el mínimo 1433 y el máximo 8661.

Durante el período de observación de 28 días, no se detectaron signos clínicos ni mortalidad en ninguna de las aves.

Los resultados de hematocrito a los 14 y 28 días mostraron que no hubo diferencias estadísticamente significativas, siendo el promedio para los cuatro grupos de 43.74 % a los 14 días y 36.2 % para los 28 días (**Figura 1**).

Los resultados para prueba de ELISA para la determinación de anticuerpos contra virus de anemia infecciosa, indicaron que hubo una disminución en el título de anticuerpos, independientemente del grupo, sin embargo, hubo diferencias estadísticamente significativas en un grupo a los 14 y 28 días, los resultados se presentan de manera detallada en la **tabla y gráfica No. 1**.

Los resultados de peso se presentan en la **tabla y gráfica No. 2**. Al final del experimento, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Y la uniformidad fue de 60% para el grupo A y D mientras que fue de 80% para los grupos B y C.

En el ancho de los timos solo se encontraron diferencias en los 14 días, a los 28 días no hubo diferencia estadística significativa (**Figura 2**). En cuanto a bolsa de

Fabricio, no hubo diferencias en tamaño durante todo el experimento (**Figura 3**).

Los resultados detallados se presentan en las **tablas y gráficas No. 3 y 4**.

La médula ósea no presentó cambios durante todo el experimento (**Figura 4**).

En el estudio histopatológico, no se encontraron diferencias significativas en la relación corteza-médula así como tampoco en el diámetro de la bolsa de Fabricio entre los tratamientos a los 14 y 28 días.

Experimento 2.

Los resultados de la prueba de ELISA para la determinación de anticuerpos contra virus de anemia infecciosa en las aves del grupo inicial, indicaron que las aves fueron positivas a anticuerpos, con un título medio geométrico de 8331, coeficiente de variación de 30.82 %, siendo el mínimo 1104 y el máximo 9558.

Durante el período de observación de 28 días, tampoco se detectaron signos clínicos ni mortalidad en ninguna de las aves.

Los resultados de hematocrito en todo el experimento no mostraron diferencias estadísticamente significativas, siendo el promedio para los cuatro grupos de 33.52 %.

Los resultados para prueba de ELISA para la determinación de anticuerpos contra virus de anemia infecciosa, indicaron que hubo una disminución en el título de anticuerpos, independientemente del grupo, además no hubo diferencias estadísticamente significativas entre grupos a los 14 y 28 días, los resultados se presentan de manera detallada en la **tabla y gráfica No. 5**.

Los resultados de peso se presentan en la **tabla y gráfica No. 6**. En los 28 días de observación no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. La uniformidad fue de 50% par el grupo B, 60% para los grupos A y C, y 80% par el grupo D.

En cuanto al ancho de los timos y tamaño de la bolsa de Fabricio no hubo diferencia estadística significativa durante todo el experimento (**Figura 5, 6**). Los resultados detallados se presentan en las **tablas y gráficas No. 7 y 8**.

La médula ósea no presentó cambios durante todo el experimento (**Figura 7**).

En el estudio histopatológico, no se encontraron diferencias significativas en la relación corteza-médula así como tampoco en el diámetro de la bolsa de Fabricio entre los tratamientos a los 14 y 28 días.

DISCUSIÓN

Los anticuerpos maternos proporcionan una protección completa a los pollitos jóvenes en contra de la anemia inducida por el CAV, en caso de que los pollitos no se encuentren inmunocomprometidos por otros factores.² Los pollitos al nacer con anticuerpos maternos y ser desafiados al CAV pueden desarrollar una inmunodepresión subclínica que se extiende hasta las 6 semanas.²⁰ La inmunidad derivada de la madre, incluyendo la protección contra los desafíos experimentales, persiste en la mayoría de los casos hasta por casi 3 semanas,^{2, 6} y en algunos casos hasta 4.²⁰ Sin embargo, en parvadas de reproductoras con un mal esquema de vacunación es posible que en la progenie se encuentre un pequeño porcentaje de animales seronegativos.^{6,16} En el presente estudio, los grupos testigo negativo se comportaron de esta manera, ya que algunos animales de los evaluados inicialmente al día de edad fueron seronegativos. Por otra parte, a diferencia de lo descrito anteriormente, todos los animales resultaron negativos a partir de la segunda semana de edad, lo cual pudiera indicar que la inmunidad materna de estas aves no es la adecuada. Esto es un fenómeno frecuente en campo.^{4, 30}

En el caso de los animales vacunados, resultaron seronegativos desde la segunda semana de edad, permaneciendo así hasta el final del estudio. La vacunación al día de edad no incrementó el título de anticuerpos. Ha sido descrito que la infección por el CAV en animales sin anticuerpos provoca seroconversión después de dos semanas post-infección,^{3, 30} y genera lesiones y signos clínicos. Por otro lado, se ha demostrado que los anticuerpos maternos previenen los signos clínicos, pero no previenen la infección.²⁰ En el presente estudio, se encontró que

en el grupo testigo positivo las aves también resultaron seronegativas desde las dos semanas y hasta el final del estudio, lo cual indica que los anticuerpos maternos disminuyen en presencia del virus, y que la seroconversión no se lleva a cabo. Esto mismo sucede en los dos experimentos. Por lo tanto, se concluye que desde el punto de vista serológico, la vacunación al día de edad en las aves seropositivas de este estudio no representó beneficio alguno.

La anemia en aves se define, por lo general, como un valor de hematocrito menor o igual a 27%,^{2, 7, 31} pero también podría considerarse como apropiado un límite de 25%.^{2, 7, 32} Estos valores son comúnmente utilizados para identificar aves clínicamente afectadas con el CAV después de una exposición experimental.^{30, 32,}

³³ Los valores de hematocrito en las aves del presente estudio, estuvieron siempre por encima de 27 %, es decir, no se presentó anemia. Debe considerarse sin embargo, que existen diferentes teorías acerca de la anemia, ya que algunos autores consideran que es el único signo específico,² mientras que para otros, si bien la enfermedad se llama anemia infecciosa, los valores bajos de hematocrito no siempre se presentan, ya que esto depende de las características de patogenicidad, virulencia y dosis del agente.^{6, 16, 24, 34, 35} El hecho de que las aves del presente estudio no presentaron anemia, pudiera explicarse en primera instancia a la presencia de anticuerpos maternos,²⁰ o bien en el caso de los animales vacunados, la vacuna es con virus atenuado que, de acuerdo al fabricante, no ocasiona anemia. Sin embargo, en el testigo positivo tampoco se presentó anemia aun cuando el virus es considerado muy virulento.^{22, 29, 36} De este modo se concluye que el uso de las vacunas en aves ligeras y pesadas con

anticuerpos, no produce anemia y que este fenómeno pudiera ser explicado por neutralización del virus vacunal.

Los signos clínicos por infección del CAV incluyen anemia, ganancia de peso disminuida, depresión, anorexia y un incremento en la mortalidad dependiendo de la severidad.^{2, 5, 6, 10, 15, 20, 32, 34} En este estudio, al parecer las aves fueron protegidas por los anticuerpos maternos, ya que tampoco se presentaron signos clínicos. En el pollo de engorda no hubo diferencias en peso durante todo el experimento, sin embargo, en el caso de las aves ligeras, pudo apreciarse irregularidad desde el peso inicial, que no representó diferencias al final del ensayo, por otro lado, si bien no hubo diferencias en el peso, la uniformidad se vio alterada, se considera que las aves deben tener en forma ideal 80% de uniformidad.³⁷ Este hallazgo pudiera indicar una posible desventaja. Llama la atención, que en el caso del testigo positivo no se presentaran signos ni lesiones, aún cuando el virus es considerado como muy virulento según estudios previos.^{22, 30, 36} Se puede concluir que la inmunidad materna, con niveles de anticuerpos elevados, es capaz de proteger de manera eficiente a las aves aún con desafíos de campo muy virulentos.

En infecciones experimentales existe una atrofia de timo y disminución en el tamaño de la bolsa de Fabricio, así como hipoplasia o aplasia de médula ósea, en donde el tejido linfoide es sustituido por adipocitos, lo cual hace ver a la médula de color rosa o amarillo.^{2, 38}

Aunque a los 14 días en las aves ligeras se encontraron diferencias en cuanto al ancho del timo, no se apreció atrofia de corteza del mismo en el estudio histopatológico que indique efecto del virus, por lo que los timos más pequeños en

el grupo C pudieran ser debido al menor tamaño y peso de los pollos registrados desde el inicio. Cabe destacar que no hubo diferencias en el resto del experimento y que el peso de las aves fue similar al final de este.

En cuanto a bolsa y médula ósea, el no encontrar lesiones, sugiere que no hubo replicación viral, y este hecho, al igual que la ausencia de signos clínicos, pudiera deberse al efecto de los anticuerpos maternos.

En el caso de las aves pesadas, no se encontraron signos clínicos ni diferencias en peso, hematocrito, aspecto de la médula ósea, ancho del timo y bolsa de Fabricio, por lo que se presentó el mismo fenómeno que en las aves ligeras.

Si bien, los boletines técnicos de las vacunas disponibles en México indican que las vacunas contra anemia infecciosa no deben ser aplicadas en aves menores de 8 semanas de edad por el riesgo de inducir lesiones e inmunodepresión,^{23, 24} en el presente estudio no se encontró atrofia de corteza tímica, dado que la relación corteza-médula no fue alterada, así como tampoco atrofia de bolsa de Fabricio y médula ósea, lo cual refuerza los hallazgos clínicos y macroscópicos.

En algunos estudios se ha encontrado en aves menores a 14 y 28 días de edad aumento en la variación del tamaño folicular en la bolsa de Fabricio, así como depleción de linfocitos corticales e involución de los folículos. En cuanto al timo, este se encontró normal en aves menores de 28 días de edad, sin embargo, en aves mayores de 35 días se encontró una atrofia de corteza y médula.²⁰ En aves de 18 días de edad presentaron cambios en médula ósea que consistieron en una depleción moderada a severa de células eritroides y mieloides. En el timo, no se distinguió la división entre la corteza y la médula debido a la atrofia.³⁴

De acuerdo a los resultados obtenidos, el comportamiento de los perfiles serológicos, hematocrito, lesiones macro y microscópicas, así como el peso, es similar tanto en estirpes ligeras como pesadas.

CONCLUSIÓN

Los resultados del presente estudio muestran claramente que la vacunación contra virus de anemia infecciosa al día de edad en aves con anticuerpos maternos no produce signos clínicos ni lesiones en los órganos linfoides y médula ósea; sin embargo, la disminución en el nivel de anticuerpos maternos llegando a ser negativo a la segunda semana de vida se considera riesgoso, ya que las aves se encuentran expuestas durante más tiempo ante los virus de campo. Por lo tanto, la vacunación de aves al día de edad no se recomienda, y es una práctica que debe ser evitada en campo ya que no ofrece ninguna ventaja.

REFERENCIAS

1. Toro H, Ramirez AM, Larenas J. Pathogenicity of chicken anemia virus (isolate 10343) for young and older chickens. *Avian Pathol* 1997;26:485-499.
2. Von Bülow V; Schat KA. Anemia infecciosa aviar. En: Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, McDougald LR, Saif YM. *Enfermedades de las aves*. 2ª ed. México:El Manual Moderno, 2000:757-772
3. Ledesma N, Fehervari T, Casaubon MT, Lucio E, Ratz F. Chicken infectious anemia in Mexico: virus identification and serology survey. *Avian Dis* 2001;45:788-796.
4. Ledesma MN. Anemia infecciosa del pollo. En: *Sistema de Producción Animal I Vol. 2. Aves*. División de Sistema de Universidad Abierta y Educación a Distancia. UNAM-FMVZ, 2005:309-314
5. Hagood L, Kelly T, Wright J, Hoerr F. Evaluation of chicken infectious anemia virus and associated risk factors with disease and losses in broilers. *Avian Dis* 2000;44:803-808.
6. McNulty MS. Chicken anaemia agent: a review. *Avian Pathol* 1991;20:187-203.
7. Yuasa N, Taniguchi T, Yoshida I. Isolation and some characteristics of an agent inducing anemia in chicks. *Avian Dis* 1979;23:366-385.
8. Valle VMN, Lucio DE. Demostración de la presencia de anticuerpos y del virus de la anemia infecciosa en México por medio de la prueba de inmunoperoxidasa indirecta. *Memorias de la XVIII Convención Nacional ANECA*; 1993 mayo 5-9; Cancún (Quintana Roo), México. México (DF): Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas, AC, 1993:328-335.

9. Ledesma N, Fehervari T, Casaubon MT, Lucio DE. Aislamiento del virus de anemia infecciosa del pollo en México, reproducción del cuadro clínico y lesiones a partir de casos de campo. Memorias de la XXIII Convención ANECA; 1998 mayo 6-9; Puerto Vallarta (Jalisco), México. México (DF): Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas, AC, 1998:124-126.
10. Ledesma N, Fehervari T, Casaubon MT, Lucio DE. Reproducción de lesiones y cuadro clínico característico de la anemia infecciosa del pollo en México a partir de casos de campo. Memorias de VII Congreso Nacional de Patología Veterinaria SMPV, 1998 junio 3-6; Manzanillo (Colima), México. México (DF): SMPV 1998:10-11.
11. Ledesma N, Fehervari T, Casaubon MT, Lucio DE. Efecto del virus de anemia infecciosa del pollo aislado en México, sobre la vacunación y desafío con virus de ENC e IBF. Memorias de la XXIV Convención ANECA, 1999 mayo 5-8; León (Guanajuato), México. México (DF): Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas, AC, 1999:177-182.
12. Todd, D. Avian circovirus diseases: lessons for the study of PMWS. *Vet Microbiol* 2004;169-174.
13. McKenna GF, Todd D, Borghmans J, Welsh MD, Adair BM. Immunopathologic investigations with attenuated chicken anemia virus in day-old chickens. *Avian Dis* 2003;47:1339-1345.
14. Herdt PD, Bosch GV, Ducatelle R, Uyttebroek E, Schrier C. Epidemiology and significance of chicken infectious anemia virus infections in broilers and broiler parents under novaccinated european circumstances. *Avian Dis* 2001;45:706-708.

15. McNulty MS, McIlroy SG, Bruce DW, Todd D. Economic effects of subclinical chicken anemia agent infection in broiler chickens. *Avian Dis* 1991;35:263-268.
16. Lucio B. Anemia infecciosa aviar. *Memorias del VIII Seminario Internacional de Patología aviar*; 1994 junio 6-10; Athens (Georgia), EUA: Universidad de Georgia, 1994:486-506.
17. Yamaguchi S, Imada T, Kaji N, Mase M, Tsukamoto K, Tanimura N, Yuasa N. Identification of a genetic determinant of pathogenicity in chicken anaemia virus. *J Gen Virol* 2001;82:1233-1238.
18. Miller M, Ealey K, Wendelien O, Schat K. Detection of chicken anemia virus DNA in embrional tissues and eggshell membranes. *Avian Dis* 2003;47:662-671.
19. Pringle CR. Virus taxonomy at the XIth International Congress of Virology, Sydney, Australia. *Arcc Virol* 2000;144:2065-2070.
20. Sommer F, Cardona C. Chicken anemia virus in broilers: dynamics of the infection in two commercial broiler flocks. *Avian Dis* 2003;47:1466-1473.
21. Chapa BJ, Lucio DE. Descripción de lesiones macroscópicas y microscópicas en aves libres de patógenos específicos inoculados con el virus de la anemia infecciosa. *Memorias de la XVIII Convención Nacional ANECA*; 1993 mayo 5-9; Cancún (Quintana Roo), México. México (DF): Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas, AC, 1993:49-56.
22. Ledesma MN. Caracterización molecular y de patogenicidad de los virus de anemia infecciosa aislados en México (Tesis de Doctorado). México, D.F.: FMVZ. UNAM, 2006.
23. Hoja técnica Circomune y Circomune W. Vacuna contra la anemia infecciosa aviar, virus vivo. Biomune Co. Lenexa, Kansas 66215 U.S.A. U.S. Vet Lic. No. 368.

24. Boletín técnico Nobilis Anemia I.A. P4. Intervet México, S.A. de C.V.
25. Yuasa N. Propagation and infectivity Titration of the Gifu-1 strain of chicken anemia agent in a cell line (MDCC-MSB1) derived from Marek's Disease Lymphoma. Nat Inst Anm Heal Q 1983;23:3-30.
26. Norma Oficial Mexicana NOM-033-ZOO-1995. Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres. Diario Oficial de la Federación (05, 26, 1996).
27. Campbell TW. Avian hematology and cytology. Ames Iowa: Iowa State University Press, 1988.
28. Perusquia MT, Paasch ML. Necropsias de las aves. México: Trillas, 1985.
29. Estrada FE, Peralta ZL, Rivas MP. Manual de técnicas histológicas. México: AGT Editor SA, 1982.
30. Ledesma MN. Aislamiento y caracterización del virus de anemia infecciosa del pollo en México, reproducción de la enfermedad y encuesta serológica en parvadas comerciales (Tesis de Maestría). México, D.F.: FMVZ. UNAM, 1999.
31. Rosenberger JK, Cloud SS. The isolation and characterization of chicken anemia agent (CAA) from broilers in the United States. Avian Dis 1989;33:707-713.
32. Pope CR. Chicken anemia agent. Vet Immunol Immunopathol 1991;30:51-65.
33. Yuasa N, Imai K. Pathogenicity and antigenicity of eleven isolates of chicken anemia agent (CAA). Avian Pathol 1986;15:639-645.
34. Lucio B, Schat KA, Shivaprasad HL. Identification of the chicken anemia agent, reproduction of the disease and serological survey in the United States. Avian Dis 1990;34:146-153.
35. McNulty MS, Connor TJ, McNeilly F. Influence of dose on experimental anemia due to chicken anemia agent. Avian Pathol 1990;19:167-171.

36. Andrade MMM. Estudio de patogenicidad de tres aislamientos mexicanos del virus de anemia infecciosa del pollo titulados mediante diferentes métodos (Tesis de Maestría). México, D.F.: FMVZ. UNAM, 2004.
37. Quintana LJA. Avitecnia. Manejo de las aves domésticas más comunes. 3ª ed. México: Trillas, 1999.
38. Barnes HJ, Pope CR. Hemic system and lymphoid system. En: Riddell C. Avian Histopathology. 2ª ed. Florida: American Association of Avian Pathologists 1996:1-44.

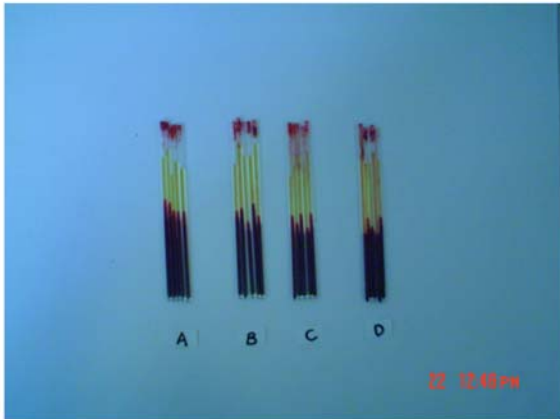


Figura 1. Hematocrito 28 días experimento 1

En los 4 grupos se demuestra la ausencia de anemia.



Figura 2. Timo 28 días experimento 1

No se observa atrofia en los 4 grupos.



Figura 3. Bolsa de Fabricio 28 días experimento 1

No hay diferencias de tamaño entre los 4 grupos.

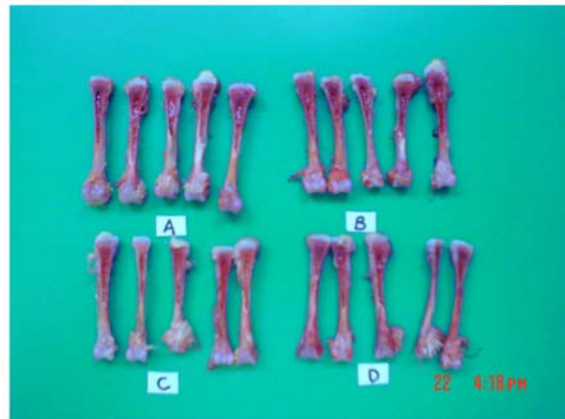


Figura 4. Médula ósea 28 días experimento 1

Se observan rojas en los 4 grupos, lo que demuestra la ausencia de lesiones.

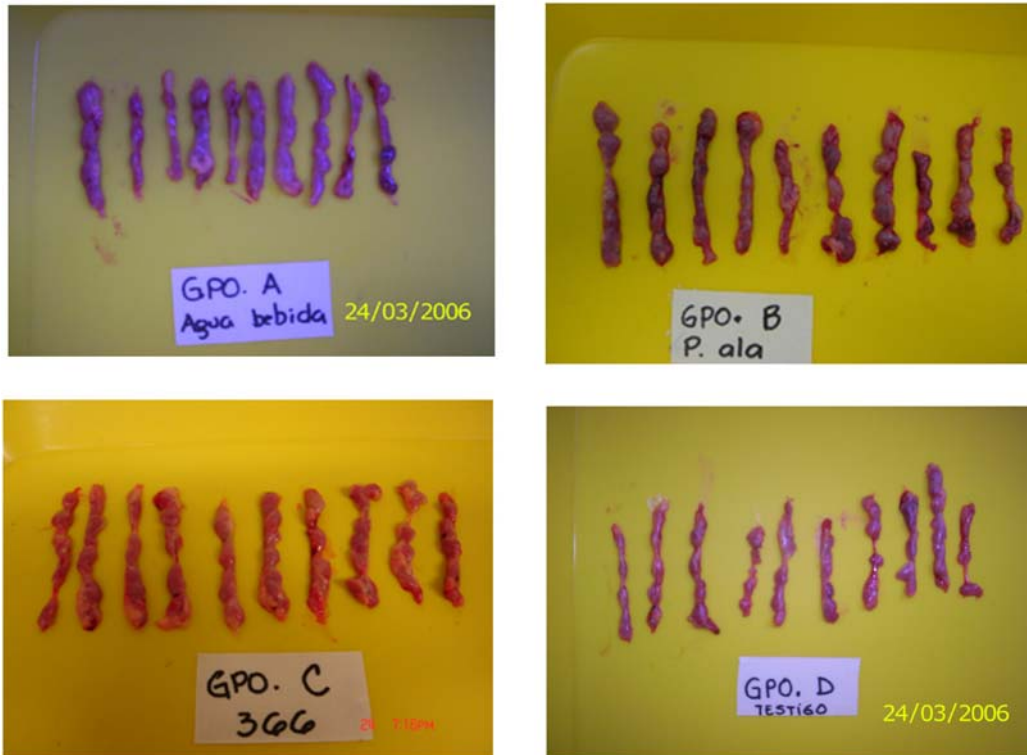


Figura 5. Timo 14 días experimento 2

No se observa atrofia en los 4 grupos.



Figura 6. Bolsa de Fabricio 14 días experimento 2

No hay diferencias de tamaño entre los 4 grupos.



Figura 7. Médula ósea 14 días experimento 2
La coloración roja en los 4 grupos demuestra la ausencia de lesiones.

Tabla 1. Títulos de las pruebas de ELISA en aves ligeras con anticuerpos maternos contra CAV

	inicial	14 días				28 días			
		A	B	C	D	A	B	C	D
Ave / Título									
1	8661	999	999	1155	999	999	999	999	999
2	1433	999	999	2406	2279	999	999	999	999
3	3106	999	1551	5214	999	999	999	999	999
4	5158	1884	999	1715	1939	999	999	999	999
5	8661	2943	999	5543	2337	1055	999	999	999
6	8661	1974	999	3029	1811				
7	8661	999	999	2441	999				
8	8661	999	999	1480	999				
9	8661	999	1210	1172	N/D				
10	5603	999	999	N/D	N/D				
11	8661								
12	6854								
13	8661								
Promedio	7034	1379.40	1075.30	2683.89	1545.25	1010.20	999	999	999
Desviación estándar	2476.169	672.140	179.817	1652.373	607.627	25.044	0.000	0.000	0.000

*N/D: No determinado

Tabla 2. Peso en aves ligeras con anticuerpos maternos contra CAV

	inicial				14 días				28 días			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
Ave / Peso (g)												
1	39.30	37.00	33.90	40.00	123.80	124.70	95.40	109.00	188.50	255.70	174.60	184.00
2	38.10	34.70	34.30	40.60	133.50	104.30	104.00	93.40	234.60	197.60	254.80	261.30
3	39.90	35.20	35.50	38.30	123.50	99.20	87.10	115.60	225.20	247.60	183.00	218.60
4	35.50	34.80	34.80	37.70	119.60	106.80	102.80	110.60	206.30	193.70	185.10	195.80
5	37.80	34.70	34.50	34.50	108.70	101.10	105.30	117.10	222.20	173.60	225.10	232.80
6	38.90	34.00	32.60	38.90	129.80	111.00	100.60	106.10				
7	43.20	34.60	32.90	37.80	127.20	102.10	106.20	115.20				
8	36.20	32.90	35.70	38.90	116.10	102.00	94.10	103.60				
9	38.60	37.30	35.50	41.70	120.70	121.10	97.50	124.40				
10	34.10	35.20	33.90	37.60	98.30	106.30	92.10	100.60				
11	36.20	36.60	32.20	38.90								
12	37.60	36.80	33.70	37.60								
13	33.50	33.80	32.80	38.70								
14	36.90	34.00	34.30	37.00								
15	36.90	33.10	34.20	34.90								
Promedio	37.51	34.98	34.05	38.21	120.12	107.86	98.51	109.56	215.36	213.64	204.52	218.50
Desviación estándar	2.402	1.389	1.083	1.892	10.388	8.649	6.321	9.041	18.148	35.988	34.231	30.585

Tabla 3. Ancho del timo en aves ligeras con anticuerpos maternos contra CAV

	14 días				28 días			
	A	B	C	D	A	B	C	D
Ave / Ancho timo (cm)								
1	0.820	0.651	0.494	0.659	0.350	0.630	0.620	0.650
2	0.718	0.752	0.380	0.703	0.790	0.680	0.570	0.630
3	0.785	0.700	0.436	0.698	0.640	0.540	0.520	0.670
4	0.600	0.651	0.617	0.853	0.600	0.740	0.520	0.690
5	0.700	0.637	0.459	0.695	0.610	0.610	0.640	0.520
6	0.758	0.639	0.382	0.821				
7	0.695	0.459	0.387	0.729				
8	0.730	0.500	0.459	0.730				
9	0.741	0.550	0.390	0.629				
10	0.730	0.550	0.494	0.752				
Promedio	0.728	0.609	0.450	0.727	0.598	0.640	0.574	0.632
Desviación estándar	0.059	0.091	0.074	0.068	0.158	0.075	0.055	0.066

Tabla 4. Tamaño de la bolsa de Fabricio en aves ligeras con anticuerpos maternos contra CAV

	14 días				28 días			
	A	B	C	D	A	B	C	D
Ave / Tamaño bolsa (cm)								
1	1.289	0.944	0.988	0.896	1.290	1.350	1.480	1.130
2	1.086	1.550	0.854	0.841	1.310	1.200	1.380	1.080
3	1.050	0.943	0.730	0.866	1.600	1.320	1.150	1.480
4	0.966	0.931	N/E	0.900	1.440	1.090	1.380	1.390
5	0.864	0.954	0.730	1.050	1.370	1.370	1.120	1.240
6	0.923	N/E	0.896	1.090				
7	1.189	1.132	0.819	0.900				
8	0.853	0.704	N/E	0.911				
9	0.896	0.954	N/E	0.500				
10	1.050	0.843	1.145	N/E				
Promedio	1.017	0.995	0.880	0.884	1.402	1.266	1.302	1.264
Desviación estándar	0.144	0.236	0.148	0.166	0.125	0.118	0.158	0.169

*N/E: No evaluable

Tabla 5. Títulos de las pruebas de ELISA en pollo de engorda con anticuerpos maternos contra CAV

Ave / Título	inicial	14 días				28 días			
		A	B	C	D	A	B	C	D
1	9201	999	3386	999	999	1679	999	999	999
2	1104	999	3073	999	999	999	999	999	999
3	9558	999	999	999	3278	999	999	999	999
4	9042	999	999	3073	2890	999	999	999	999
5	8762	999	999	999	999	999	N/D	5012	999
6	9233	999	999	999	999				
7	8265	999	999	999	999				
8	9400	999	999	999	999				
9	9312	999	999	999	999				
10	9431	999	999	999	999				
Promedio	8331	999	1445.1	1206	1416	1135	999	1801.6	999
Desviación estándar	2567.236	0.000	943.351	655.856	883.857	304.105	0.000	1794.668	0.000

*N/D: No determinado

Tabla 6. Peso en pollo de engorda con anticuerpos maternos contra CAV

Ave / Peso (g)	inicial				14 días				28 días			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
1	59.5	69.2	69.4	69.4	202.3	263.5	230.1	151.3	750	900	660	885
2	66.8	70.6	84.9	61.6	216.3	248.6	206.9	200.7	900	790	590	830
3	76.8	73.2	62.7	55	182.5	214	211.7	243.2	710	765	770	620
4	59	62	58.9	57.8	155.7	161.3	209.6	243.6	410	850	680	800
5	60.8	56.8	66.1	61.4	245.4	185.9	206	231.3	690	N/D	840	830
6	59.8	61.5	77.4	61.8	183	207.2	248.5	229.8				
7	60.9	58.7	58.9	70.5	251.3	165.2	203.8	139.3				
8	71.7	59.4	65.5	60.3	125.2	252.1	221.3	208.2				
9	59.6	59.8	57.4	76.9	161.3	244.2	236.1	161.2				
10	63.8	63	60.4	65.6	195	249	227.5	219				
Promedio	63.87	63.42	66.16	64.03	191.80	219.10	220.15	202.76	692.00	826.25	708.00	793.00
Desviación estándar	6.082	5.596	8.918	6.590	39.394	37.963	15.049	38.800	177.820	60.742	97.826	101.464

*N/D: No determinado

Tabla 7. Ancho del timo en pollo de engorda con anticuerpos maternos contra CAV

	14 días				28 días			
	A	B	C	D	A	B	C	D
Ave / Ancho timo (cm)								
1	0.5	0.6	0.71	0.48	1.187	0.835	0.792	0.802
2	0.36	0.63	0.69	0.5	0.846	0.923	0.87	1.09
3	0.37	0.51	0.55	0.41	1.143	0.858	0.846	1.198
4	0.55	0.51	0.51	0.49	0.682	0.703	1.039	0.813
5	0.49	0.39	0.5	0.51	0.748	N/D	0.747	0.725
6	0.5	0.53	0.65	0.5				
7	0.65	0.51	0.5	0.59				
8	0.45	0.41	0.46	0.7				
9	0.51	0.5	0.58	0.55				
10	0.5	0.4	0.44	0.51				
Promedio	0.488	0.499	0.559	0.524	0.921	0.830	0.859	0.926
Desviación estándar	0.084	0.080	0.096	0.077	0.231	0.092	0.111	0.206

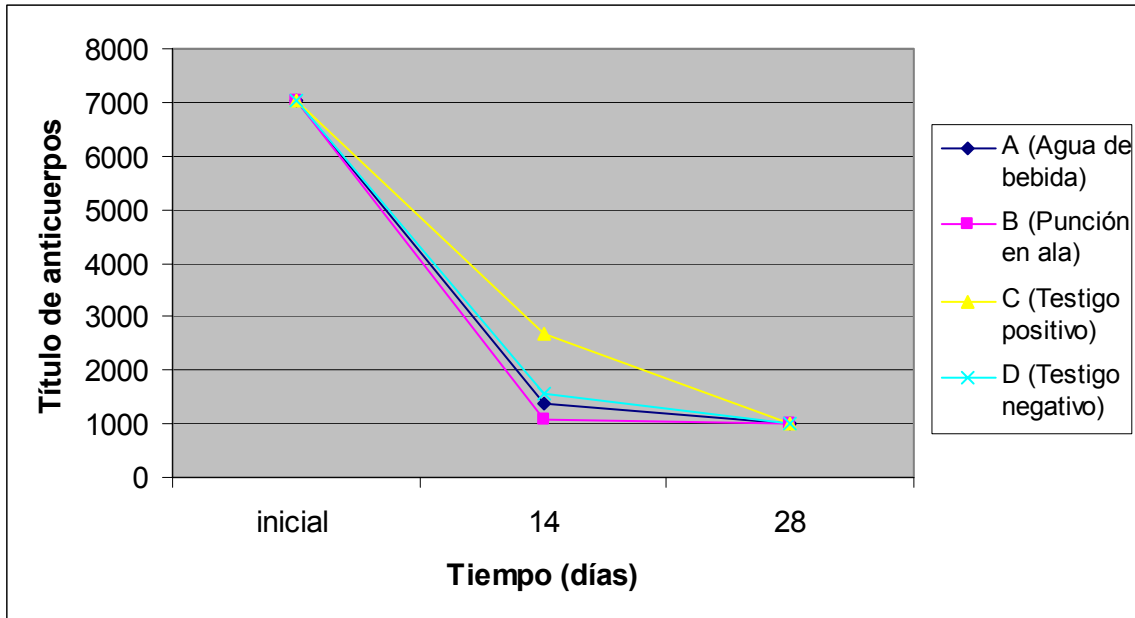
*N/D: No determinado

Tabla 8. Tamaño de la bolsa de Fabricio en pollo de engorda con anticuerpos maternos contra CAV

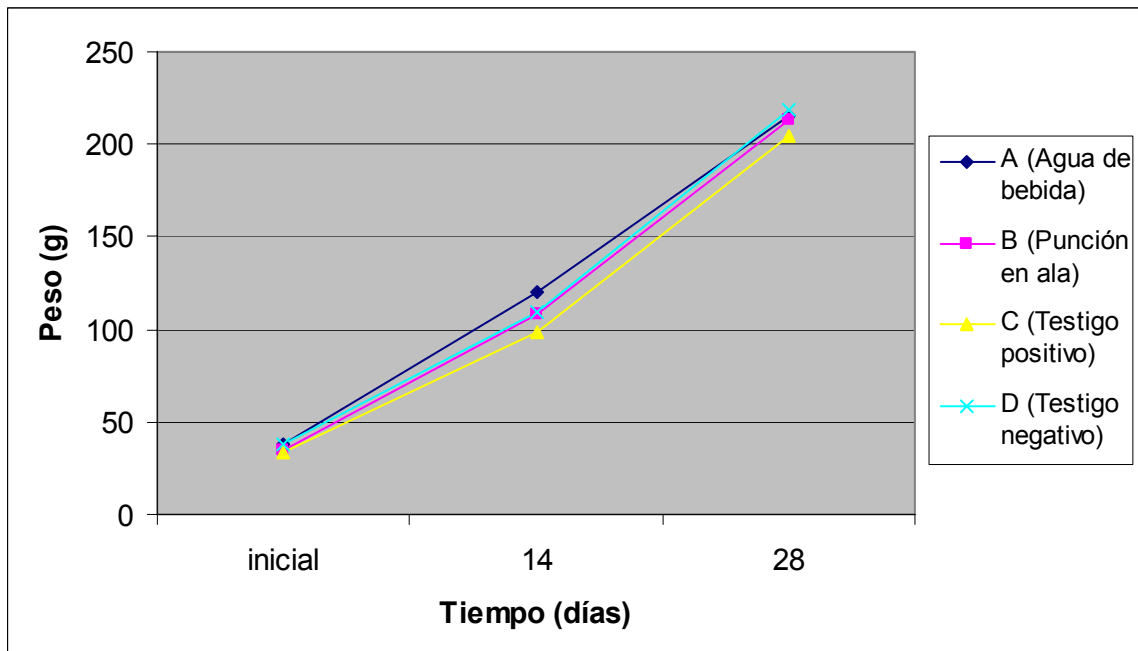
	14 días				28 días			
	A	B	C	D	A	B	C	D
Ave / Tamaño bolsa (cm)								
1	0.71	0.95	0.9	0.69	1.615	1.65	1.649	1.572
2	0.79	0.82	0.78	0.7	1.318	1.495	1.363	1.417
3	0.89	0.91	N/D	0.8	1.562	1.649	1.891	1.759
4	0.81	0.9	0.88	0.68	1.329	1.516	1.275	1.649
5	0.87	0.79	0.81	0.95	1.199	N/D	1.725	1.682
6	0.51	0.64	0.78	0.72				
7	1.01	0.65	0.71	1.1				
8	0.99	0.76	0.89	0.98				
9	0.65	0.68	0.79	0.9				
10	0.9	0.5	0.89	0.8				
Promedio	0.813	0.760	0.826	0.832	1.405	1.578	1.581	1.616
Desviación estándar	0.155	0.143	0.067	0.144	0.176	0.084	0.256	0.130

*N/D: No determinado

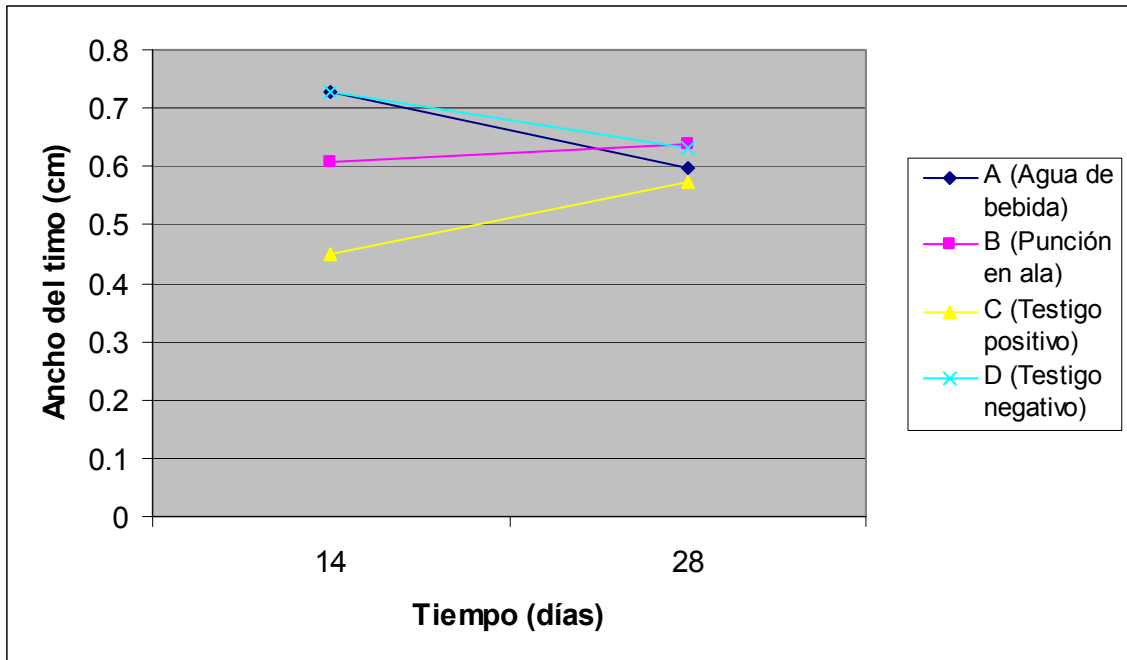
Gráfica 1. Títulos de las pruebas de ELISA en aves ligeras con anticuerpos maternos contra CAV



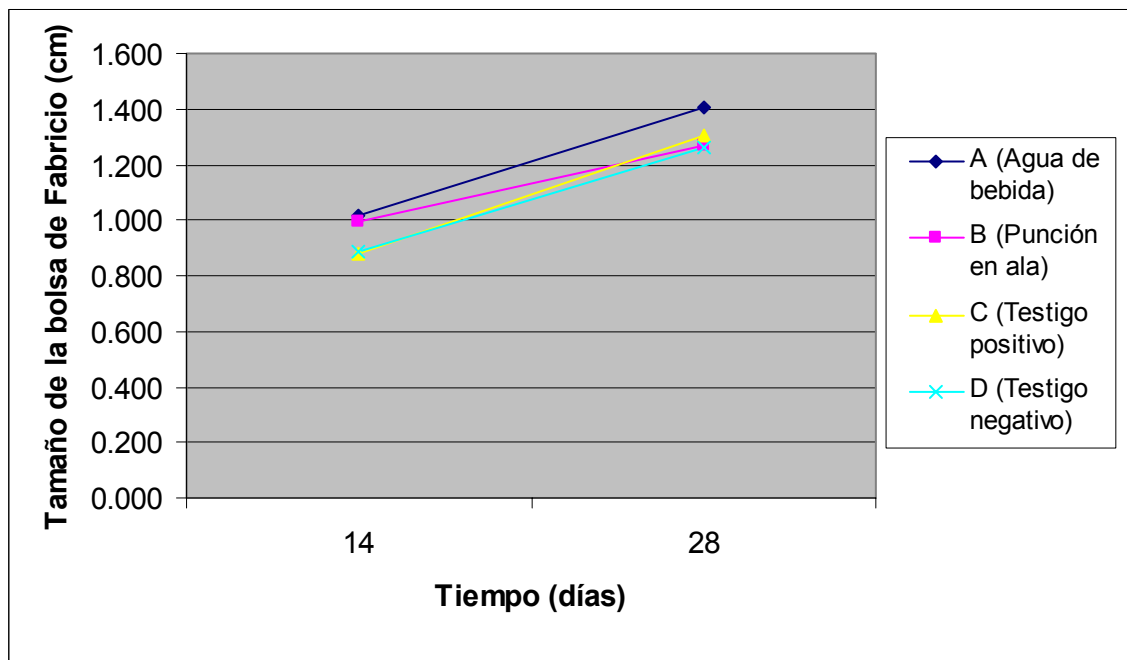
Gráfica 2. Peso en aves ligeras con anticuerpos maternos contra CAV



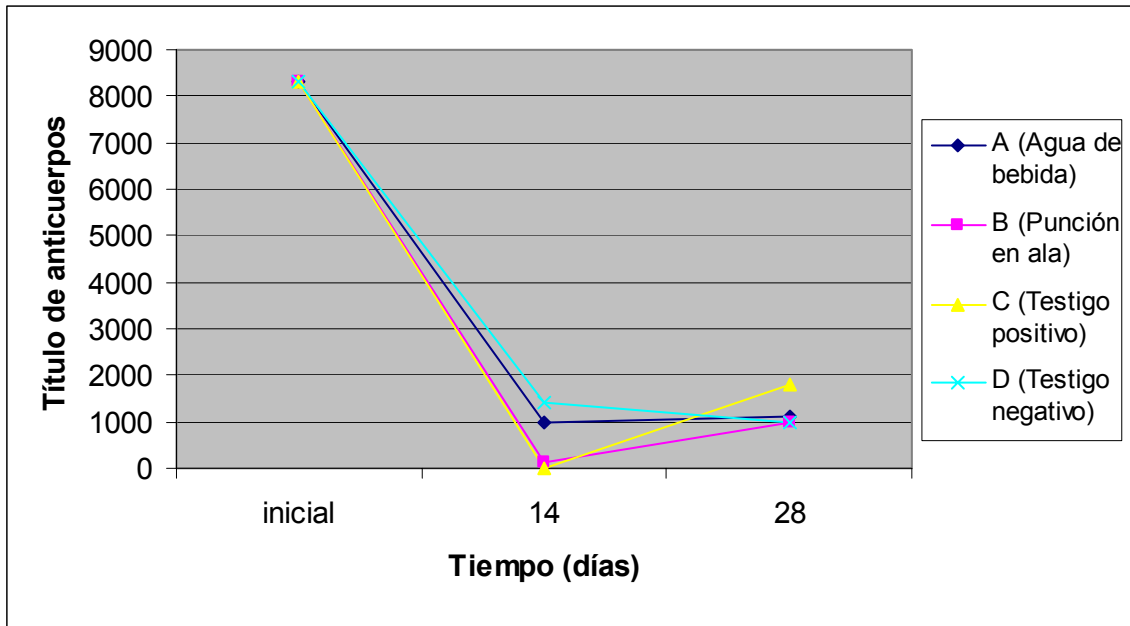
Gráfica 3. Ancho del timo en aves ligeras con anticuerpos maternos contra CAV



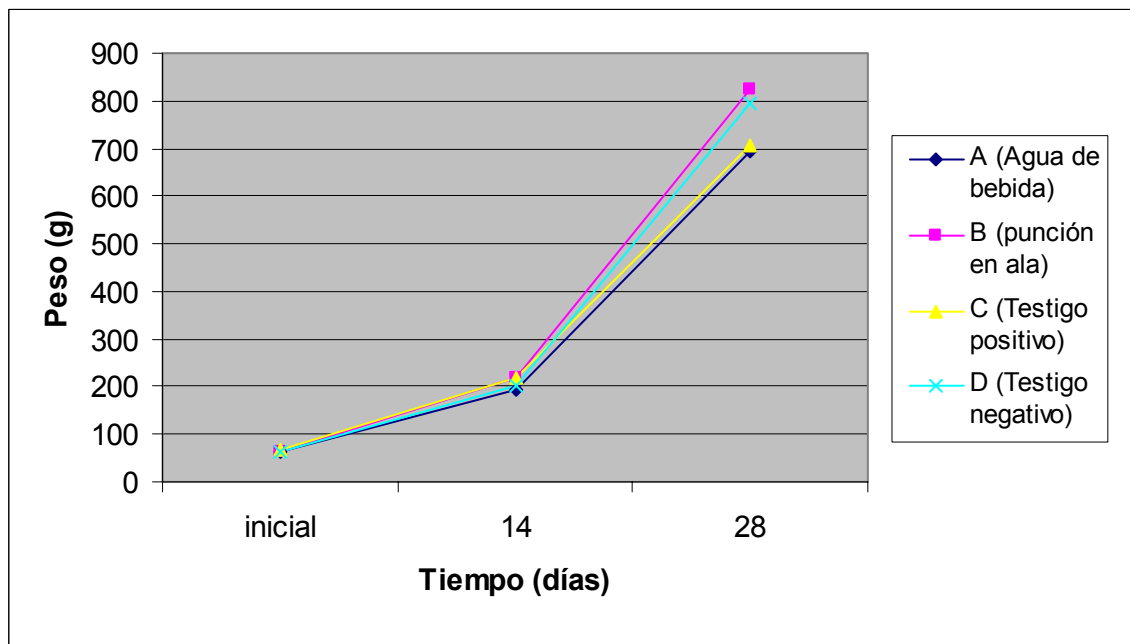
Gráfica 4. Tamaño de la bolsa de Fabricio en aves ligeras con anticuerpos maternos contra CAV



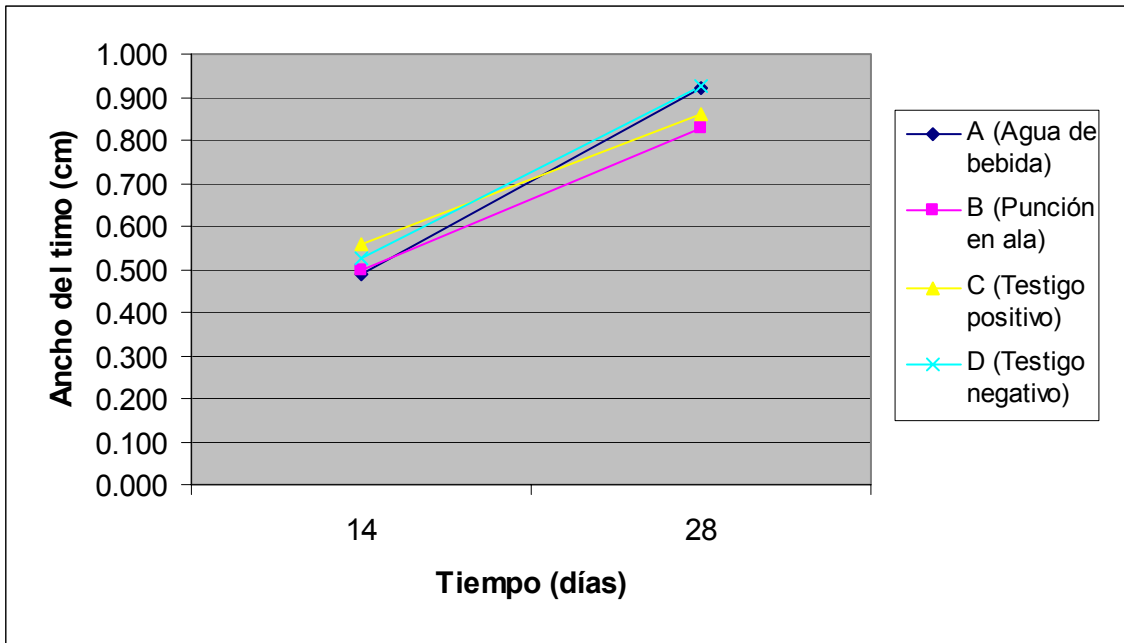
Gráfica 5. Títulos de las pruebas de ELISA en pollo de engorda con anticuerpos maternos contra CAV



Gráfica 6. Peso en pollo de engorda con anticuerpos maternos contra CAV



Gráfica 7. Ancho del timo en pollo de engorda con anticuerpos maternos contra CAV



Gráfica 8. Tamaño de la bolsa de Fabricio en pollo de engorda con anticuerpos maternos contra CAV

