



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EFFECTO DEL Aloe vera Y DEL YATREN - CASEINA
COMO INMUNOESTIMULADORES CONTRA EL
VIRUS DE LA INFECCION DE LA BOLSA DE
FABRICIO y Salmonella enteritidis EN GALLINAS
REPRODUCTORAS PESADAS Y SU PROGENIE

T E S I S

PARA LA OBTENCION DEL GRADO DE
MAESTRO EN PRODUCCION ANIMAL

P R E S E N T A ;

JAVIER BALCAZAR QUINTANA

A S E S O R E S :

MVZ MC MA. TERESA CASAUBON H.

MVZ EPA JOSE ANTONIO QUINTANA LOPEZ

MVZ PHD GUILLERMO TELLEZ ISAIAS

MEXICO, D. F.

1996

TESIS CON
SALA DE ORIGEN





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.

El presente trabajo se realizó en el Departamento de Produccion Animal Aves, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F..

Para la realización de esta tesis fungieron como asesores:

MVZ. MC. MA.TERESA CASAUBON HUGUENIN

MVZ. EPA. JOSÉ ANTONIO QUINTANA LÓPEZ

MVZ. Ph.D. GUILLERMO TÉLLEZ ISAÍAS

Para el desarrollo del trabajo el autor fué becado por el Programa de Apoyo a la Investigación de la DEPeI de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.

DECLARACIÓN

El autor da consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México para que la tesis esté disponible para cualquier tipo de reproducción e intercambio bibliotecario.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Javier Balcázar Quintana', written in a cursive style.

MVZ. Javier Balcázar Quintana

DEDICATORIA

A JEHOVÁ: MI DIOS Y CREADOR.

A JESUCRISTO: MI SALVADOR.

Jehová es mi pastor; nada me faltará.
En lugares de delicados pastos me hará
descansar;
Junto a aguas de reposo me pastoreará.
Confortará mi alma;
Me guiará por sendas de justicia por amor
de su nombre.

Aunque ande en valle de sombra de muerte,
No temeré mal alguno, por que tú estarás
conmigo;
Tu vara y tu cayado me infundirán aliento.
Aderezas mesa delante de mí en presencia
de mis angustiadores;

Unges mi cabeza con aceite; mi copa está
rebosando.
Ciertamente el bien y la misericordia me
seguirán todos los días de mi vida,
Y en la casa de Jehová moraré por largos
días.

Salmo 23.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres: Rodolfo y Rufina, que con su ejemplo, dedicación y amor hacia sus hijos nos enseñaron el camino del bien.

A mis hermanos: Rubén, Hector, Laura, Daniel e Hilda, quienes me han brindado su apoyo moral y su estímulo constante para encausar mi vida y mi vocación al estudio.

A mis cuñados y sobrinos: Matty, Ruth, Ernesto, Jorge; Karia, Giovana, Isai, Asereth, Hector R., Grecia y Jorge Jr..

A los Doctores : José Antonio Quintana L., Ma. Teresa Casaubon H., Guillermo Téllez I. y al Ing. Agr. José Luis Pablos por la formación profesional de ellos recibida y el apoyo brindado en el transcurso de este posgrado.

A H. Jurado, Doctores: Ricardo Moreno Ch., Ma. del Pilar Castalleda, Miguel A. Marquez y Carlos Vega por sus sugerencias y acertados comentarios.

Al Lab. Solvay Animal Health, Inc. y a los Doctores: Andrés Le Lorier, Martín Silva, Felizardo León y Alejandro Rojas, por su apoyo y colaboración para llevar a cabo esta investigación.

Al Depto. de Producción Animal Aves y de manera especial a las MVZ: Rosa Ana Wong G., Blanca Bautista C., Cecilia Rosario C., Donaji G. y al Sr. Juan Merino por su amistad y contribución desinteresada en la realización de las pruebas de laboratorio de este trabajo.

A mis amigos de la D-Generación 88-92 y en especial a Estela F., Nancy H., Hilda J., Susana E., Luz Ma. C., Betty y Larisa L..

A mis grandes amigos: Carlos Soto Ch., Eduardo M., Armando G., Julian E., Ernesto T., José Luis A., Iber S., Servando G., Daniel C., Carlos J., Ricardo J. Leopoldo B. y a mi mascota "Polo".

A las Familias: Balcázar Paredes, Quintana Alcantara y Soto Chávez, por su valiosa amistad.

Dedico este trabajo a todos aquellos seres vivos que dan su vida en contribución de la ciencia, en especial a las aves sacrificadas que hicieron posible la realización de este proyecto de investigación.

TABLA DE CONTENIDO

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTOS.....	II
TABLA DE CONTENIDO.....	III
LISTA DE CUADROS.....	IV
LISTA DE GRÁFICAS.....	VI
LISTA DE FIGURAS.....	VI
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN	
Importancia del sistema inmune de las aves en la industria avícola.....	3
Infección de la bolsa de Fabricio.....	5
Salmonelosis aviar.....	14
Uso de inmunostimulantes en la avicultura.....	20
<i>Acemannan</i>	22
<i>Yatrén-caseína</i>	23
Justificación.....	25
Objetivos.....	26
MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
Experimento 1.....	41
Experimento 2.....	44
Experimento 3.....	48
CONCLUSIONES.....	52
LITERATURA CITADA.....	53

LISTA DE CUADROS

	Pag
1. Porcentaje de nacimientos, fertilidad y mortalidad embrionaria calculado mediante el embriodiagnóstico de huevo obtenido de RIE 40.....	62
2. Porcentaje de nacimientos, fertilidad y mortalidad embrionaria calculado mediante el embriodiagnóstico de huevo obtenido de RIE 50.....	63
3. Valor estimado para los parámetros β_0 , β_1 , β_2 y coeficiente determinación r^2	64
4. Comparaciones de los inmunoestimulantes en estudio a través de 30 sem. técnica de variables binarias de Gujarati.....	65
5. Promedios de pesos corporales (g) al día de edad y al sacrificio (15° día) de la progenie de RIE 40 desafiada contra el virus de la IBF.....	66
6. Promedios de pesos corporales (g) al día de edad y al sacrificio (15° día) de la progenie de RIE 50 desafiada contra el virus de la IBF.....	67
7. Promedios de títulos de VSN contra la IBF de los sueros de la progenie de RIE 40 desafiada al cuarto día contra el virus de la IBF y sacrificada al 15° día de edad.....	68
8. Promedios de títulos de VSN contra la IBF de los sueros de la progenie de RIE50 desafiada al cuarto día contra el virus de la IBF y sacrificada al 15° día de edad.....	69
9. Promedios de índices bursales de la progenie de RIE 40 y 50 al sacrificio (15° día) que fueron desafiadas al 4° día contra el virus de la IBF.....	70
10. Promedios de índices metatarso bursal de la progenie de RIE 40 y 50 al sacrificio (15° día) que fueron desafiadas al 4° día contra el virus de la IBF.....	71
11. Promedios de lesiones bursales de la progenie de RIE 40 y 50 al sacrificio (15° día) que fueron desafiadas al 4° día contra el virus de la IBF.....	72
12. Promedios de pesos corporales (g) al día de edad y al sacrificio (6° día) de la progenie de RIE 40 desafiada contra <i>Salmonella enteritidis</i> al cuarto día de edad.....	73

13. Promedios de pesos corporales (g) al día de edad y al sacrificio (8 ^o día) de la progenie de RIE 50 desafiada contra <i>Salmonella enteritidis</i> al cuarto día de edad.....	74
14. Aislamientos positivos a partir de cultivos primarios de hígado, bazo y tonsilas cecales de la progenie de RIE 40 desafiada contra <i>Salmonella enteritidis</i>	75
15. Aislamientos positivos a partir de cultivos primarios de hígado, bazo y tonsilas cecales de la progenie de RIE 50 desafiada contra <i>Salmonella enteritidis</i>	76
16. Promedios de cambios histológicos observados a las 48 horas en la progenie de RIE 40 desafiada contra <i>S. enteritidis</i>	77
17. Promedios de cambios histológicos observados a las 96 horas en la progenie de RIE 50 desafiada contra <i>S. enteritidis</i>	78

LISTA DE GRÁFICAS

	Pag.
1. Títulos de anticuerpos en VSN contra la IBF en gallinas reproductoras vacunadas a las 18 sem. con inmunoestimulantes.....	79
2. Títulos de VSN en gallinas vacunadas contra la IBF con inmunoestimulantes a las 18 semanas de edad en comparación con su respectivo modelo de regresión lineal raíz cuadrada.....	80
3. Títulos de VSN en gallinas vacunadas contra la IBF con inmunoestimulantes a las 18 semanas de edad en comparación con su respectivo modelo de regresión lineal raíz cuadrada (continuación).....	81
4. Porcentaje de lesiones bursales de la progenie de RIE 40 desafiada contra el virus de la IBF.....	82
5. Porcentaje de lesiones bursales de la progenie de RIE 50 desafiada contra el virus de la IBF.....	83
6. Porcentaje de aislamientos positivos a <i>S. enteritidis</i> a partir de cultivos primarios de hígado y bazo de la progenie de RIE 50.....	84
7. Porcentaje de aislamientos positivos a <i>S. enteritidis</i> a partir de cultivos primarios de tonsilas cecales de la progenie de RIE 50.....	85

LISTA DE FIGURAS

1. Infiltración de mononúcleares observado en los ciegos de la progenie de gallinas reproductoras de 40 sem. de edad vacunadas con <i>acemannan</i>	86
2. Infiltración de mononúcleares observado en los ciegos de la progenie de gallinas reproductoras de 40 sem. de edad vacunadas sin adyuvante.....	87

RESUMEN

BALCÁZAR QUINTANA JAVIER. EFECTO DEL *Aloe vera* Y DEL YATRÉN-CASEÍNA COMO INMUNOESTIMULADORES CONTRA EL VIRUS DE LA INFECCIÓN DE LA BOLSA DE FABRICIO y *Salmonella enteritidis* EN GALLINAS REPRODUCTORAS PESADAS Y SU PROGENIE. (Bajo la asesoría de: MVZ., MC. Ma. Teresa Casaubon Huguenin; MVZ., EPA. José Antonio Quintana López; MVZ., PhD. Guillermo Téllez Isaías). Se utilizaron 2 adyuvantes: el *acemannan*, polisacárido derivado del extracto de la planta cactácea *Aloe vera* y el yatrén caseína, para evaluar su efecto en la respuesta inmune activa vacunal contra el virus de la Infección de la Bolsa de Fabricio (IBF) en gallinas reproductoras pesadas y en la inmunidad pasiva en su progenie ante desafíos tempranos de IBF y *Salmonella enteritidis*. Se diseñó un experimento consistente en tres estudios: **1)** se vacunaron contra la IBF cuatro grupos de 2,200 gallinas de 18 semanas, junto con los siguientes adyuvantes: a) *acemannan* con una dosis de 0.2 ml; b) *acemannan* 0.4 ml; c) *yatrén caseína* 0.2 ml y d) un grupo testigo sin adyuvante. Se evaluó la producción de anticuerpos cada 4 semanas, durante 32 semanas y la fertilidad e incubabilidad a las 40 y 50 semanas de edad. **2)** En 80 pollos de un día de edad obtenidos de las gallinas reproductoras del estudio 1 a las 40 y 50 semanas de edad (RIE 40 y RIE 50), se evaluaron las siguientes variables después de haber sido desafiados al cuarto día de edad contra el virus de la IBF: índice bursal, índice metatarso bursal, lesión bursal y la inmunidad humoral contra la IBF. **3)** En 80 pollos de un día de edad obtenidos de RIE 40 y RIE 50, se estudiaron los siguientes parámetros dos días después de haber sido desafiados con *S. enteritidis*: lesión en los ciegos e invasión a órganos (hígado, bazo y tonsilas cecales). Los resultados obtenidos en el primer estudio indicaron que los adyuvantes empleados estimularon mayores niveles de anticuerpos en relación al testigo ($p < 0.05$). Sin embargo, no se encontraron diferencias en la fertilidad e incubabilidad. En contraste en el estudio 2, solamente se encontraron diferencias en los títulos de anticuerpos en la progenie de RIE 40 para ambos adyuvantes. En el estudio 3, el *acemannan* a 0.2 ml y a 0.4 ml indujeron mayor quimiotaxis de

linfocitos hacia el ciego en comparación con los grupos *yatrén caseína* y testigo, lo cual pudo haber evitado la invasión al hígado, bazo y tonsilas cecales. Los resultados del presente estudio, indican que ambos adyuvantes fueron igualmente eficaces para incrementar los títulos de anticuerpos en las reproductoras, pero en la progenie se observó incremento sólo en la progenie de las aves de 40 semanas. El efecto de la respuesta inmune celular, únicamente se apreció en las aves que recibieron *acemannan* al disminuir la infección con *S. enteritidis*.

SUMMARY

BALCÁZAR QUINTANA JAVIER. The effect of *Aloe vera* and *Yatren-caseina* like immune stimulators against the infectious bursal disease virus and *Salmonella enteritidis* in breeder hens and their progeny. (Under the consultancy of: MVZ., MC. Ma. Teresa Casaubon Huguenin; MVZ., EPA. José Antonio Quintana López; MVZ., Ph.D. Guillermo Téllez Isaías). Two adjuvants: *acemannan*, a polysaccharide derived of the extract of the *Aloe vera* plant and the *yatren caseina*, were utilized in 3 experiments, in order to evaluate their effect in the immune response against the infectious bursal disease virus (IBDV) in breeder hens and in the passive immunity to their progeny after an early challenge with IBDV and *Salmonella enteritidis* 1) four groups of 2,200 hens of 18 weeks were vaccinated against the IBDV plus either of the following adjuvants: a) *acemannan* with a dose of 0.2 ml; b) *acemannan* 0.4 ml; c) *yatren caseina* 0.2 ml or d) a control without adjuvant. The production of antibody's was evaluated every 4 weeks, during 32 weeks and the fertility and hatchability at 40 and 50 old weeks. 2) On 80 one-day-old broilers from immune stimulated breeders at 40 and 50 weeks old from study (ISB 40 and ISB 50), the following variables were evaluated after an oral challenge with IBDV at four days of age: bursal index, metatarsus bursal index, bursal lesion and the humoral immune response against IBDV. Study 3) On 80 one-day-old broilers from ISB 40 and ISB 50, organ invasion, cecal colonization and histology of the ceca, were evaluated after on oral challenge with *S. enteritidis* phage type 13 at four days of age. In study 1, both adjuvants increase significantly ($p < 0.05$) the titles of antibody at both 40 and 50 weeks as compared with the control group. However, there were no effects on fertility and hatchability ($p > 0.05$). In contrast in study 2, there were only differences in the titles of antibodies on the progeny of the ISB 40 ($p < 0.05$) that received both immunostimulats. Finally, in study 3, only the progeny of the ISB 40 and ISB 50 that received the *acemannan* at 0.2 or 0.4 ml were able to decrease significantly the organ invasion and cecal colonization ($p < 0.05$) of *S. enteritidis* as compared with the other groups. Also in these group

of birds, a subjective increase of mononuclear cells were observed in the ceca. The results of the present study, indicate that both adjuvants were able of increase the titles of antibodies in breeders, yet, in their progeny, this effect was only observable on the breeders at 40 weeks of age. The effect of the cellular immune response, was evident on the birds that received *acemannan* when challenged with *S. enteritidis*.

INTRODUCCIÓN

IMPORTANCIA DEL SISTEMA INMUNE DE LAS AVES EN LA INDUSTRIA AVÍCOLA

En las áreas de producción de alimento de origen animal, la avicultura es la más dinámica y tecnificada pero también una de las más susceptibles a pérdidas económicas por factores sanitarios y de manejo (69).

Desde el nacimiento, el pollo tiene un sistema de defensa compuesto de dos formas que le permiten protegerse contra los agentes infecciosos:

- La resistencia natural o innata: tiene las características de ser inespecífica, espontánea, no tiene memoria y es hereditaria, algunos ejemplos son: el pH, la flora bacteriana normal, las enzimas, las faneras, secreciones como la saliva e integridad de epitelios.
- La inmunidad: comprende dos mecanismos de protección, una mediante anticuerpos (humoral) y la otra (base celular) a través de linfocinas y linfocitos sensibilizados. La inmunidad tiene las características de ser específica, poseer memoria y ser transmitida a la progénie (52,86).

Las principales funciones del sistema inmune son dos: la primera es la eliminación de células tumorales y la segunda es evitar la infección por agentes patógenos virales y bacterianos (35).

La inmunidad en las aves tiene su origen desde su estado embrionario, siendo que la yema o vitelo contiene una alta cantidad de inmunoglobulinas y en el hígado y saco vitelino se encuentran las células primordiales, que darán origen a los eritrocitos, granulocitos, monocitos y linfocitos (52).

Durante el desarrollo embrionario los linfocitos al pasar por el timo o la bolsa de Fabricio, adquieren características particulares transformándose en linfocitos T si pasan primero por timo o linfocitos B si llegan a la bolsa de Fabricio. Posteriormente los

linfocitos emigran a órganos linfoides periféricos como son el bazo, la glándula de Harder, las tonsilas cecales, las placas de Peyer y los acúmulos y nódulos linfoides (52).

Cuando las células del sistema inmune encuentran un antígeno, ocurre una respuesta inmune humoral y celular. La inmunidad humoral está dada por los linfocitos B, que después de la estimulación antigénica, proliferan y se diferencian en células plasmáticas productoras de anticuerpos. La inmunidad celular está dirigida por los linfocitos T, que al ser activados por un antígeno, secretan varias sustancias (linfocinas) que son responsables de diversas reacciones inmunológicas (86).

Existen diversos factores que afectan al sistema inmune, provocando una disminución en su capacidad para proteger al ave contra la invasión de agentes patógenos. Estos factores se pueden dividir en dos grupos.

- Factores de estrés tales como la alta densidad de población, inadecuada calefacción-ventilación, mal manejo de cama, presencia de altos niveles de amoníaco, fallas en los programas de iluminación, deficiencia de alimentación y agua.
- Factores infecciosos: por ejemplo, los virus de la Infección de la Bolsa de Fabricio (IBF), de la enfermedad de Marek, de la viruela aviar y micotoxinas (52).

Entre las infecciones en las que interviene principalmente el sistema inmune humoral está el virus de la IBF y entre las que el sistema inmune celular es el medio de defensa más eficaz está la salmonelosis (56,63,69).

INFECCIÓN DE LA BOLSA DE FABRICIO

La IBF, es una enfermedad infecciosa viral causada por un avibirnavirus que se caracteriza por afectar y destruir los linfocitos B principalmente, en la bolsa de Fabricio y en otros órganos como el timo, el bazo, las tonsilas cecales y la glándula de Harder, provocando inmunodepresión, principalmente en aves menores de 4 semanas de edad (13,54,55,56,61,90). En aves de mayor edad, la enfermedad cursa con la presentación del Síndrome nefrítico hemorrágico y elevación de la mortalidad (55,61).

HISTORIA

La bolsa de Fabricio fue descrita por primera vez en el año 1600 por el anatomista italiano Hyeronimus Fabricius. En 1956, Bruce Glick publicó la importancia de este órgano en la inmunidad de las aves, pero fue hasta 1957 cuando Cosgrove reportó por primera vez la IBF, en las cercanías de Gumboro, Delaware, EUA. Es por esto que también se le conoce como enfermedad de Gumboro (54,61).

En 1962, Winterfield y Hitchner lograron aislar el agente causal (61). En México, Lucio *et al.* confirmaron la presencia de la enfermedad en este país al determinar que el 90 % de las parvadas poseían anticuerpos neutralizantes contra el virus de la IBF (54).

ANATOMÍA DE LA BOLSA DE FABRICIO

La bolsa de Fabricio es un divertículo del *proctodeum*, con forma de pera, que ocupa una posición media dorsal y cuya pared es rica en tejido linfoide (59).

Durante la vida embrionaria, las células primarias de tejido linfoide migran hacia las áreas granulopoyéticas de la médula ósea y de aquí al timo o a la bolsa de Fabricio, donde se diferencian como linfocitos T o B, formando lo que se conoce como tejido linfoide primario, que posteriormente por migración a otros tejidos, darán origen al tejido linfoide secundario o periférico (34,61).

En gallinas, la bolsa alcanza su tamaño máximo entre las 3-6 semanas de edad, midiendo entonces alrededor de 3 cm de largo x 2 cm de ancho y pesando aproximadamente 4 g. Entre las 8 y 12 semanas empieza su regresión, pesando a los 10 meses tan sólo 0.5 g (34,59).

Cuando la bolsa está totalmente desarrollada consta de una pared que rodea una cavidad principal axial. Esta cavidad conduce a la cloaca a través de una abertura en la pared dorsal del *proctodeum*. La pared presenta entre 12-14 pliegues o plicas longitudinales. Cada pliegue está subdividido, por trabéculas de tejido conectivo, en numerosos lobulillos en los cuales se alojan los folículos. Cada folículo comprende una corteza externa con muchos linfocitos maduros y una médula interna, con células reticulares, macrófagos, linfoblastos y escasos linfocitos (34).

AGENTE ETIOLÓGICO

El agente causal de la IBF es un virus desnudo, de forma icosaédrica, con un diámetro de 55 a 60 nm, contiene 7 a 8 proteínas en su cubierta externa, posee 92 capsoméros, exhibe formas filamentosas, presenta una doble cadena de ARN y doble segmentación, por lo cual se clasifica como birnavirus (13,61). El segmento de ARN más grande contiene información para la síntesis de las proteínas estructurales VP2, VP3 y VP4, de las cuales la VP2 induce la formación de anticuerpos (28).

Se han reportado dos serotipos. El serotipo 2 fue aislado de pavos y aparentemente no produce cuadros clínicos en pollo. El serotipo 1 afecta a la gallina, es sumamente resistente a los cambios de pH y a la acción de la temperatura, siendo afectado particularmente por el yodo y el formol (13,54,57,61). Se han descrito 6 subtipos del serotipo 1, que difieren serológicamente y de virulencia de suave a alta, causando hasta 50% de mortalidad cuando infectan a pollos susceptibles (54,57).

La mayoría de las cepas crecen en el embrión de pollo y se pueden adaptar para crecer en cultivo de células por medio de pases (57).

IMPORTANCIA ECONÓMICA

Sin duda, la mayor importancia económica de la enfermedad radica en el hecho de producir inmunodepresión con la consecuente falta de protección inmunológica y por ende fallas en las respuestas vacunales, predisposición a sufrir enfermedades, conversión alimenticia deficiente, aumento en la morbilidad y mortalidad, incremento en los decomisos e incremento de costos por medicación y vacunaciones (13,52,57).

Entre las secuelas de un brote de IBF se reportan cuadros de dermatitis gangrenosa y hepatitis con cuerpos de inclusión (13,54,63).

TRANSMISIÓN

El virus de IBF es altamente contagioso y puede transmitirse por contacto directo (61). El ave afectada elimina el virus a través del excremento, hasta dos semanas después de la infección y puede permanecer infeccioso en el ambiente durante al menos, cuatro meses en materia orgánica (57). Otras fuentes de infección pueden ser la contaminación residual de locales, el agua, los alimentos, la cama y vectores mecánicos como los vehículos, el equipo, el personal, escarabajos *Alphitobius diaperinus* y mosquitos *Aedes vexans*. No hay evidencia de transmisión a través de huevo de aves infectadas (13,54,61).

MORBILIDAD Y MORTALIDAD

La posibilidad de que las aves sufran IBF, está relacionada con la concentración de virus patógeno en el medio, la edad y el nivel de anticuerpos maternos (54,60).

La morbilidad en aves susceptibles puede llegar al 100% mientras que la mortalidad es muy variable (2 a 50% aproximadamente) y depende de un gran número de factores ambientales y propios del ave. La mortalidad se inicia al tercer día posinfección, alcanzando un pico entre los dos a tres días posteriores y tiende a bajar rápidamente en un período de cinco a siete días (54,57,61).

PATOGENESIS

El período de incubación de la enfermedad puede ser corto, desde 24 horas hasta 3 días (61). El virus entra en el ave por vía oral al ingerir material contaminado, posteriormente, sufre una primera multiplicación en macrófagos y en las células reticulares del proventrículo, después en las placas de Peyer del yeyuno, de ahí pasa al torrente sanguíneo donde es transportado a la bolsa de Fabricio, que es el órgano blanco para su multiplicación (60). No obstante, el virus de la IBF también se multiplica en el timo y en el bazo donde produce lesiones (54,57).

Si las aves se infectan durante las dos primeras semanas de vida, la IBF cursa con un cuadro subclínico causando una severa inmunodepresión. Si las aves se infectan a partir de la tercera semana, puede o no presentarse signología clínica (13,54,57,60).

SIGNOS CLÍNICOS

Los signos que suelen presentarse en las aves susceptibles son: heces acuosas blanquecinas, anorexia, depresión, temblores, postración, plumas erizadas, deshidratación, tendencia de algunas aves a picarse ellas mismas la glándula uropígea y el ano, por prurito (13,54,57,60,61).

LESIONES

Las lesiones que se han observado son: deshidratación, oscurecimiento de músculos pectorales, nefritis, concentración de uratos en el riñón, hemorragias en la grasa coronaria, músculos y en la unión del proventrículo y la molleja; ésto debido a que el virus de IBF interfiere con el mecanismo normal de coagulación sanguínea. En la bolsa de Fabricio se observa: hipertrofia debido a inflamación, edema, petequias, congestión y exudado purulento. En estados finales de la enfermedad se observa atrofia de la bolsa de Fabricio con hemorragias, necrosis y formación de exudado caseoso; atrofia de timo, palidez en la médula ósea, incremento de moco intestinal, esplenomegalia y hepatomegalia con infartos periféricos (13,54,57,61).

La inmunodepresión que produce el virus de la IBF se debe a la necrosis de los folículos linfoides de la bolsa de Fabricio donde se encuentran las células B que producen inmunoglobulinas tipo M (IgM's) y G (IgG's) principalmente, así como a la interferencia en la maduración de los linfocitos B. También, afecta a la glándula de Harder de donde proviene la migración de células B secretoras de inmunoglobulinas tipo A (IgA) lo que causa mayor susceptibilidad a la entrada y colonización por virus respiratorios (54). Los efectos sobre la inmunidad celular son leves y transitorios (75). La necrosis del tejido linfoide de la glándula de Harder coincide con las lesiones en el tejido linfoide periférico (27).

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de IBF puede realizarse analizando la historia clínica de la parvada en donde existió inmunodepresión, aunado a la presencia de las lesiones observadas en la necropsia y mediante pruebas de laboratorio; las que se utilizan en México, básicamente son seis (13,54,57):

- Prueba de Precipitación en Agar.-

Es una prueba serológica cualitativa que detecta la presencia de anticuerpos contra IBF. Las cepas vacunales aparentemente no dan resultados positivos a esta prueba, por lo menos después de la primera vacunación. Cuando la prueba resulta positiva se puede pensar que el virus de la IBF infectó a las aves 10-12 días antes (54,63).

- Prueba de Virus Suero Neutralización (VSN).-

La VSN es una prueba cuantitativa que detecta niveles de anticuerpos contra IBF; utilizando virus adaptados a fibroblastos de pollo. Es una prueba que detecta antígenos específicos de serotipo. Se emplea para cuantificar los niveles de anticuerpos séricos en reproductoras y los anticuerpos maternos en los pollitos (54).

- Técnica de Inmuno Ensayo Enzimático (ELISA).-

Es una prueba cuantitativa, de procedimiento rápido. Cuando los niveles de anticuerpos contra IBF son menores de 1000 unidades, los pollitos son susceptibles a un desafío al virus de campo. Sin embargo, con niveles altos de anticuerpos maternos arriba de 2,000 unidades en la prueba de ELISA inhibirán vacunas con cepas suaves o intermedias (79).

- Histopatología.-

La histopatología puede determinar la severidad y el curso es decir el tiempo aproximado de infección con base en las lesiones observadas en la bolsa de Fabricio. Sin embargo, no se deben tomar como absolutas, ya que existen otras enfermedades que pueden causar daños muy similares (60,63,61).

- Prueba de Inmunofluorescencia.-

La inmunofluorescencia detecta la presencia del virus en el tejido de la bolsa de Fabricio. Esta técnica es muy sensible y su especificidad va en relación a antígenos de serotipo. Es decir, al haber antigenicidad cruzada detecta los diversos serotipos (17).

- Prueba de Inmunoperoxidasa.-

La prueba de inmunoperoxidasa, pone de manifiesto el virus por técnicas inmunohistoquímicas utilizando anticuerpos que son marcados con enzimas y aplicados a tejidos fijados en formalina dando una nueva dimensión al diagnóstico por permitir apreciar la distribución del antígeno con microscopía óptica (94).

TRATAMIENTO

Los agentes terapéuticos no son de valor y generalmente no son exitosos (63,56).

CONTROL Y PREVENCIÓN

El control eficaz de la IBF en los pollos comerciales requiere la reducción a la exposición del virus de campo por medio de la limpieza y desinfección entre parvadas. La bioseguridad es el factor más importante para reducir las pérdidas debido a IBF, incluyendo un buen programa de vacunación de gallinas reproductoras y de su descendencia (13).

El criterio más acertado para la inmunización en gallinas reproductoras es aplicar una vacunación entre 21 y 24 días de edad con un virus vivo, posteriormente entre 6 y 8 semanas mediante la utilización de una cepa intermedia y otra revacunación antes del inicio de la postura, con virus inactivo emulsionado para que las reproductoras tengan y transmitan a su descendencia títulos protectores de anticuerpos maternos (13,24,54,61,90).

Con base en los anticuerpos que tenga la reproductora y un seguimiento histopatológico, se pueden establecer los calendarios de vacunación pertinentes para la progenie. Se han hecho estudios en los que se ha demostrado que el nivel de anticuerpos en el suero de la reproductora son el doble de los presentes en la yema de huevo (25).

Es importante conocer el nivel de anticuerpos maternos en la progenie al momento de la vacunación, porque puede neutralizar al virus de la vacuna y por tanto sólo ocurrirá una limitada inmunidad activa y los pollos serán susceptibles a un desafío de campo (13). En el pollo de engorda, el momento de la vacunación se determina cuando los anticuerpos maternos se encuentran en un nivel entre 1:80 a 1:100 a la prueba de VSN (24,54).

En pollos cuyo nivel de anticuerpos se desconoce, se recomienda una vacunación doble a los 7 y 14 días de vida con una cepa vacunal intermedia por vía agua de bebida o por vía ocular. En sujetos con anticuerpos bajos o ausentes es recomendable vacunar durante los primeros días de edad y realizar otra revacunación 7 días más tarde. Por último, en aves con una alta inmunidad materna se debe vacunar siempre con cepas intermedias hacia los 14 o 21 días y si es posible no aplicar ninguna revacunación (57).

Existen tres tipos de vacunas que se clasifican dependiendo de su patogenicidad: suaves, intermedias y virulentas o fuertes. Las vacunas de tipo intermedio son las más

usadas ya que pueden estimular al pollo de engorda a producir anticuerpos más rápido que las vacunas suaves y sin causar el daño a la bolsa de Fabricio como algunas cepas virulentas (13).

EVALUACIÓN DE LA BOLSA DE FABRICIO EN IBF

Las alteraciones en la bolsa no son patognómicas de una etiología específica, ya que hay varios agentes etiológicos que también modifican su tamaño y peso, tales como IBF, enfermedad de Marek, infecciones bacterianas, reovirus, micotoxinas, tensión fisiológica asociada a calor, frío o inanición así como tensión social entre otros (15,16).

Para evaluar el estado inmuno competente de las parvadas existen diferentes métodos macroscópicos como son el índice bursal (IB) y el índice metatarso bursal (IMB) y microscópicos por ejemplo la evaluación histológica de la bolsa de Fabricio. El IB e IMB varían en función de las lesiones que afectan a la bolsa de Fabricio, por ejemplo la atrofia o depleción provocan disminución del peso y tamaño mientras que el acumulo de exudado seroso incrementan estos parámetros. Es por eso que pueden reflejar presencia de daño bursal. Los valores obtenidos de éstas pruebas son utilizados como una herramienta para analizar una posible inmunosupresión y poder correlacionarlos con los títulos serológicos de IBF (15,16,41,74).

I Evaluación histológica :

El estudio microscópico de la bolsa permite cuantificar lesiones tales como: congestión, hemorragia, edema, infiltración de mononucleares, infiltración de heterófilos, necrosis, depleción, hiperplasia epitelial, quistes en el epitelio, hiperplasia de células reticulares, hiperplasia de células corticomedulares, fibrosis, quistes intrafoliculares, atrofia folicular y aspecto adenoide (16).

Los folículos de las puntas de los pliegues bursales son los primeros afectados. Los factores que determinan la gravedad de la infección incluyen la concentración o virulencia de los agentes etiológicos, el nivel de inmunidad de las aves y factores de manejo (13).

II *Índice bursal* :

El IB es la proporción del peso de la bolsa de Fabricio con respecto al peso corporal. Kuney *et al.*(1980), mencionan que frecuentemente el IB permanece constante durante el período de crecimiento del ave. Esta técnica no requiere de material sofisticado de laboratorio y muestra rápidamente un panorama general del desarrollo de la bolsa de Fabricio.

III *Índice metatarso bursal* :

El IMB es la comparación de la largura del metatarso con respecto al diámetro de la bolsa. En estudios hechos por Rountree se utiliza una escala del 1 al 3 para la evaluación de la bolsa de Fabricio. Un resultado en la prueba de IMB de 20 o más se le asigna un valor de 3 (normal), de 17-19 un valor de 2 (bolsa de Fabricio en proceso de depleción) y un resultado de 16 o menos se le otorga un valor 1 (bolsa de Fabricio en depleción) (1,74).

SALMONELOSIS AVIAR

El género *Salmonella* que se incluye en la Familia *Enterobacteriaceae* y en la tribu *Salmonellae*, comprende aproximadamente 2,200 serotipos de los cuales, los de interés en la industria avícola se pueden dividir en dos grupos principalmente: el primero, de las salmonelas inmóviles, representado por *Salmonella gallinarum*, productora de la “tifoidea aviar” y *S. pullorum* productora de la “pulorosis”. Al segundo grupo pertenecen las salmonelas móviles donde las cepas de mayor incidencia son *S. typhimurium* y *S. enteritidis*. La salmonelosis aviar o paratifoidea producida por *S. enteritidis*, es una enfermedad bacteriana que afecta, principalmente, el aparato digestivo de las aves y de otros animales incluyendo al hombre, razón por la que se considera una zoonosis (5,62,63,64,76,89).

ETIOLOGÍA

S. enteritidis es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, mide aproximadamente $0.4-0.6 \times 1-3 \mu\text{m}$, no esporula, es móvil, fermenta la glucosa, el manitol, la maltosa, la dextrosa y el sorbitol. Por lo general la fermentación es con formación de gas y no fermenta la lactosa ni la sacarosa. Contiene antígenos somáticos 1,9,12 y antígenos flagelares g y m (29,44,64,68).

Salmonella sp. crece fácilmente en agar y caldos nutritivos, a una temperatura óptima de 37°C. Las colonias en cultivos de agar son redondas, escasamente elevadas y brillantes con bordes lisos, miden aproximadamente de 1-2 mm de diámetro dependiendo el grado de dispersión en las placas (64).

En el medio ambiente, *Salmonella* es capaz de sobrevivir y multiplicarse, lo cual es un factor muy importante en la transmisión y diseminación de la enfermedad. Sin embargo, es susceptible al calor y a los desinfectantes más comunes (63,64).

EPIZOOTIOLOGÍA Y TRANSMISIÓN

Las infecciones por *S. enteritidis* ocurren en cualquier parte del mundo, su transmisión es de tipo horizontal, vertical o mecánica por ingestión de alimento o agua contaminada por vectores como son los ratones, aves de vuelo libre, escarabajos, moscas y gatos. La transmisión de tipo vertical o transovárica, puede deberse probablemente a contaminación de la membrana vitelina durante la incubación y se debe diferenciar de la transmisión a través de la penetración del cascarón. Cuando la bacteria logra entrar al huevo, se multiplica rápidamente en la yema, infectando al embrión en desarrollo, el cual puede morir pero en ocasiones nace y sirve de fuente de infección para otras aves, siendo las heces la principal fuente de contaminación por *Salmonella* (63,64,76,89).

IMPORTANCIA ECONÓMICA

Desde un punto de vista económico, la infección por *Salmonella*, es la enfermedad bacteriana más importante en la industria de la incubación (12,45,64,76). Además, disminuye los parámetros productivos de las aves como son: el índice de conversión alimenticia, la producción de huevo y la fertilidad, aumenta la mortalidad y retrasa el desarrollo de las aves jóvenes (45,63,64,76).

MORBILIDAD Y MORTALIDAD

El período de incubación de la enfermedad es de 4-5 días (12,45). Las aves que muestran signos generalmente mueren durante las dos primeras semanas de vida (10-20 %) o son desechadas, causando mayores pérdidas entre el 6º y 10º día. Esta infección raramente causa mortalidad en aves de más de un mes de edad (63,64). No obstante, se ha observado que las gallinas adultas en producción o pelecha cercanas al año de edad, son altamente susceptibles (89).

Las aves que sobreviven a la enfermedad, permanecen como portadoras asintomáticas. Si son gallinas reproductoras continuarán con el ciclo de infección a través de su progenie. Cuando son pollos de engorda contaminan el medio ambiente, alimento,

cama, nidos, plumas, polvo, equipo, agua, suelos, etc., en donde puede sobrevivir la *Salmonella* hasta por dos años (63,64,89).

PATOGENESIS

S. enteritidis penetra al huésped generalmente por vía oral con los alimentos o con el agua de bebida contaminada y se adhiere a la mucosa del intestino grueso, probablemente debido a la baja motilidad, pH alcalino y una carencia general de enzimas digestivas (29,30). Este microorganismo tiene la capacidad de entrar y multiplicarse en las células eucarióticas. El mecanismo por el cual la bacteria invade la mucosa epitelial todavía no es entendido claramente, sin embargo, hay evidencia de que intervienen factores tanto de la bacteria como de la célula hospedera (29,30).

Salmonella sp. contiene un plásmido de alto peso molecular que es esencial para su virulencia, pero no así para la penetración del epitelio intestinal (43). Altmeyer *et al.*(1993), identificaron un gene llamado *invH* en *S. choleraesuis* y *S. typhimurium*, necesario para una adherencia y penetración eficiente en el epitelio. Por otra parte, Salyers *et al.*(1994), mencionan que *Salmonella* utiliza alrededor de 200 genes para invadir y sobrevivir a cambios de pH, oxidación, etc.(76).

Se ha demostrado que *Salmonella* causa disociación de microvellosidades en la superficie de las células epiteliales durante su penetración (29). Este evento parece ser un sistema regulado y dependiente de la tripsina y neuroaminidasa, que son estructuras sensibles, presentes en la superficie celular del epitelio. Durante este proceso, la bacteria requiere sintetizar nuevas proteínas, que son inducidas por las células epiteliales (30). No obstante, es conocido que la disponibilidad de oxígeno afecta la habilidad de adhesión y penetración de la bacteria a la célula (32).

La bacteria induce cambios en la membrana externa de la célula epitelial que forma pseudópodos que engloban a la bacteria en una vesícula y la transportan al interior de la

célula (76). Después de pasar la barrera del epitelio intestinal, *Salmonella* es fagocitada, pero no eliminada, por macrófagos que subsecuentemente la transportan a nódulos linfoides, bazo e hígado, en donde la *Salmonella* se multiplica rápidamente y empieza a diseminarse a otros tejidos (29). Al diseminarse la bacteria en el organismo tiene la habilidad de resistir a la acción destructora del complemento. Una de las características que contribuyen a esta resistencia es la longitud de las cadenas de polisacáridos que forman el antígeno O (76).

Por otro lado, el sistema inmunológico responde con el correcto reconocimiento del antígeno y la inducción de la respuesta inmune mediada por Linfocitos T principalmente (14).

Los linfocitos T después de ser estimulados responden dividiéndose repetidamente originando células de memoria y efectoras. Estas últimas sintetizan y secretan proteínas llamadas linfocinas, que son importantes componentes de la inmunidad celular, responsables de promover la proliferación, diferenciación y activación de los linfocitos T (14).

Las aves jóvenes son más susceptibles a la enfermedad; la producción de anticuerpos alcanza títulos máximos entre la primera y segunda semana posinfección y comienzan a disminuir en forma constante, aunque las aves siguen siendo seropositivas (33).

SIGNOS Y SÍNTOMAS

La mayoría de las cepas de *S. enteritidis* se localizan en ciego sin producir signos clínicos (89). Sin embargo, otros autores han reportado que la bacteria al entrar y diseminarse por todo el organismo, provoca signos como: somnolencia, plumas erizadas, deshidratación, diarrea, taponamiento cloacal, depresión, ceguera, anorexia, postración y una tendencia de las aves a agruparse junto a la fuente de calor. En las aves adultas además, se observa la cresta pálida y seca, la producción de huevo disminuye hasta 20 % (45,63,64,70).

LESIONES

Las lesiones que se aprecian en pollitos incluyen el saco vitelino de consistencia acuosa o caseosa y de color rojizo o verde amarillento, peritonitis, pericarditis, focos de necrosis en el corazón, el pulmón, el riñón y la molleja, el hígado y el bazo se ven de un color bronceado. En aves adultas, el ovario puede estar congestionado, con atrofia y ruptura de folículos. Cuando el curso es crónico, se puede observar pericarditis, ooforitis, peritonitis, artritis, panoftalmitis, nefritis y enteritis hemorrágica o necrótica. La severidad del brote depende de las condiciones ambientales, grado de exposición y la presencia de infecciones recurrentes (12,45,63,64,70).

Algunos factores de virulencia de *Salmonella* son definitivamente debidas a las endotoxinas (asociadas con la porción somática) y exotoxinas (64). En aves infectadas artificialmente con *Salmonella*, se encontraron cambios hematológicos como son: disminución en el volumen del paquete celular, hemoglobina y el conteo total de eritrocitos, pero se encontró un aumento en el rango de sedimentación de eritrocitos y en el conteo total de leucocitos (78).

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico presuntivo se realiza mediante la historia clínica, signos y lesiones macroscópicas. El diagnóstico definitivo se requiere del aislamiento e identificación de la bacteria a partir de cultivos primarios de los órganos afectados (36,63,89).

En estados crónicos se requiere un estudio bacteriológico más minucioso, mediante la prueba de Williams, que incluye medios selectivos diferenciales (63,64). Sin embargo, en las primeras semanas de infección, el aislamiento de la bacteria no está correlacionado con el resultado de las pruebas serológicas, siendo éstas la aglutinación en tubo y la prueba de inmuno ensayo enzimático (ELISA) de una alta sensibilidad para la detección de aves portadoras (19).

TRATAMIENTO

Cualquier tratamiento que se aplique no será 100% satisfactorio, ya que se utiliza para disminuir las pérdidas por mortalidad, pero de ninguna manera impiden la transmisión transovárica, ni eliminan la infección. La administración de sulfas, quinolonas y nitrofuranos dan buen resultado en el tratamiento de la enfermedad (63).

PREVENCIÓN Y CONTROL

Para poder prevenir la salmonelosis es importante reforzar las medidas sanitarias, como son:

- Adquirir pollitos libres de *Salmonella sp.* y mantener las parvadas de reproductoras y progenitoras libres.
- Producir un mínimo de huevo sucio, el huevo fértil se debe recolectar de los nidos por lo menos seis veces al día a horarios fijos.
- Reforzar la higiene en todo tipo de actividades en incubación y granjas.
- Las parvadas infectadas deben ser eliminadas, posteriormente se debe realizar una estricta limpieza y desinfección de la caseta. La introducción de nuevas parvadas sólo se podrá realizar después de que los resultados de las pruebas de laboratorio de la caseta hayan salido negativos a *Salmonella*.
- Control de roedores y aves de vuelo libre, ya que pueden contaminar el alimento, el agua, así como la cama y la misma granja.
- Detección de parvadas infectadas a través del monitoreo serológico y bacteriológico, principalmente en aves reproductoras.
- Acelerar la maduración de la microflora del tracto intestinal en pollitos recién nacidos, mediante la adición del 20 % en la dieta de la cama seca proveniente de aves adultas libres de *Salmonella*. A esta práctica se le conoce actualmente como exclusión competitiva (63,64,89).

USO DE INMUNOESTIMULANTES EN LA AVICULTURA

Los inmunoestimulantes, inmunopotenciadores o modificadores de la respuesta inmune son sustancias que modifican de manera positiva (estimulan) la respuesta inmune. Sin embargo, la mayoría de las veces los inmunoestimulantes inducen un aumento en las respuestas inmunitarias de tipo celular y del tipo humoral, aunque, este aumento puede facilitar selectivamente el incremento de una categoría determinada de respuesta al modular los mecanismos de regulación, en particular la presencia de antígeno y el incremento de los anticuerpos (6,67).

En contraste con los adyuvantes, los estimulantes de la inmunidad no necesitan administrarse junto con los antígenos para aumentar una respuesta inmunitaria (86).

Entre los inmunoestimulantes de importancia en Medicina Veterinaria, se encuentran:

- Bacterias y productos bacterianos.- La importancia de las micobacterias en la estimulación de la respuesta inmune celular ha sido mostrada, como es el caso de la vacuna para la prevención de la tuberculosis humana (BCG, cepa viva atenuada de *Mycobacterium bovis*) y los corineformes anaerobios en especial *Corynebacterium parvum* que promueven la formación de anticuerpos cuando se administran en suspensión de bacterias muertas (4,86).
- Derivados de levaduras y hongos.- Por ejemplo el cimozán, los glucanos y lentinanos, aumentan la acción fagocitaria activando la fagocitosis y a los macrófagos. Pueden funcionar como adyuvantes, y potencializar la resistencia a los agentes infecciosos (86).
- Hormonas tímicas.- Varios de los factores solubles extraídos del timo tienen efectos importantes sobre el sistema inmunitario (86).
- Vitaminas y Minerales.- Algunas vitaminas y minerales además de participar en la nutrición del individuo son capaces de estimular el sistema inmune (10). Franchini *et al.* en

1991 reportaron que administrando D.E. alta tocopherol acetato (vit. E) en vacunas emulsionadas incrementa la respuesta inmune contra la enfermedad de Newcastle, por una interacción con las células del sistema inmuno competente relacionadas con la reacción de la respuesta inflamatoria (31).

El ácido ascórbico o vitamina C, es ampliamente recomendado como reforzador de la inmunidad en los humanos y animales. Sin embargo, los resultados en aves han sido motivo de polémica. Se ha señalado que sus beneficios dependen de la línea genética y de la dosis utilizada (39,40).

En cuanto a los minerales, cuando el selenio es administrado de modo suplementario a cerdos y bovinos, tienen cierto efecto estimulante de la respuesta inmune (10).

- Se ha estudiado la utilidad del levamisol y el thiabendazol para estimular la respuesta inmune principalmente en bovinos, cerdos y aves, aunque su uso es limitado (9).

- Plantas: Recientemente se detectó que un polisacárido (*Acemannan*)^R derivado del extracto de la planta cactácea *Aloe vera*, cuyo nombre común es "sábila", tiene la capacidad de incrementar la fagocitosis en los macrófagos de los pollos *in vitro* (48).

- Productos de origen animal.- Tales como algunas sustancias como es la caseína, que se encuentran principalmente en la leche de los mamíferos y en algunos vegetales por ejemplo la soya producen un aumento en la producción de globulinas plasmáticas, especialmente de las gamma globulinas, con lo cual hay un reforzamiento del sistema inmunitario global (46).

Acemannan^R .- Marca registrada de Solvay Animal, Health Inc.

ACEMANNAN^R

Es un polímero complejo de carbohidratos, que contiene manosa (*mannans*) y que posee una significativa actividad inmunoestimulante cuando es administrado en animales (87). El *mannas* se une a los macrófagos mediante receptores proteicos específicos para la manosa. Lee *et al.* (1988), realizaron estudios *in vivo* en los que el receptor de la manosa es probablemente regulado por la ingestión de glicoproteínas de manosa terminal.

Por otra parte, estudios *in vitro* demostraron que el *mannas* en su forma libre bloquea competitivamente los receptores en el macrófago, aumentando la fagocitosis de levaduras (83). El *mannas* activa a los macrófagos provocando un aumento en la liberación de citoquinas, que estimulan a las células B, las células T y a los mismos macrófagos e interactúan estimulando la actividad de la médula ósea (92).

Se demostró que el efecto del *acemannan* utilizado como adyuvante en la vacunación de pollos de engorda, depende del antígeno que se emplee (3,21). Cuando el adyuvante es aplicado a pollitos de un día de edad no sólo mejora la protección contra la enfermedad de Marek, sino que también favorece la respuesta inmune contra la enfermedad de Newcastle y la Infección de la bolsa de Fabricio. En contraste, pollitos vacunados normalmente requieren varios días antes de que la inmunidad activa se desarrolle y en muchas veces, ésta es impedida debido a la inmunidad materna (3,21). Además de intensificar la respuesta inmune, el carbohidrato *acemannan* es metabolizado por el organismo sin dejar residuos (47).

En estudios de campo, *acemannan* disminuyó la mortalidad de las aves, decomisos en rastros y la conversión alimenticia, por lo que el producto demostró un retorno de inversión de más del 3:1, en su uso con pollos de engorda (3).

Stewart *et al.*, mencionan que al entrar el carbohidrato *mannas* en el organismo del pollo, se une a los receptores de los macrófagos provocando que la respuesta inmune sea efectiva a más temprana edad (47). Por otra parte Sharma y colaboradores reportaron que el *acemannan* reduce la inhibición mitogénica inducida por reovirus en pollos de un día de edad, por lo que dedujeron que el *acemannan* protege parcialmente a los pollos contra un defecto funcional de las células T. Cuando se incubó el *acemannan* en cultivo celular, produjo altos niveles de óxido nítrico lo cual es una indicación de la actividad celular (80).

***YATRÉN-CASEÍNA*^R**

Existen otros fármacos que pueden ser administrados junto con las vacunas actuando como adyuvantes como es el caso del *Yatrén-caseína*, estimulante no específico del sistema inmune que tiene la ventaja de aumentar la capacidad defensiva del organismo, en el curso de la infección (46).

El principio activo del *Yatrén-caseína* es el ácido-7-yodo-8-quinolin-5-sulfónico. Además, tiene en su molécula sal sódica, bicarbonato de sodio, un 26.5% de yodo y en su presentación comercial se encuentra suspendido al 3 % (38,46).

La caseína está exenta de sustancias provocadoras de anafilaxia y el yatrén produce su efecto mediante su contenido de yodo. En contraposición a las proteínas, la caseína como elemento proteico químico en solución al 5% en combinación con el yatrén posibilita una regulación exacta del estímulo para conseguir reacciones focales necesarias para el efecto terapéutico (46).

Yatrén-caseína^R.- Marca registrada de Bayer de México S.A.

El Yatrén-caseína estimula a los leucocitos, monocitos y a los linfocitos aumentando así la capacidad defensiva inmunológica, incrementa la diuresis y las secreciones especialmente la secreción bronquial, produce moderado descenso de la presión arterial y estimula el metabolismo celular (38,46). Además, interviene en la activación de las células T favoreciendo el reconocimiento de los agentes infecciosos. Asimismo, activa la producción de interferón, la producción de diferentes tipos de células como las células NK y secreciones de interleucinas (46).

Este producto está indicado en procesos inflamatorios agudos, subagudos y crónicos de origen bacteriano y no bacteriano, artritis infecciosas y no infecciosas, enfermedades infecciosas generales y locales. Su vía de aplicación es intramuscular, subcutánea o local dependiendo la afección y puede ser administrado simultáneamente con antibióticos, como adyuvante o inmunestimulante. La dosis recomendada en las aves es de 0.1 a 0.5 ml (46).

JUSTIFICACIÓN

Las principales causas de pérdidas económicas en la Industria Avícola son de origen sanitario (69). En aves recién nacidas el sistema inmunológico no está completamente desarrollado y su protección se basa en la transferencia de la inmunidad materna por medio de anticuerpos presentes en el vitelo (11,85).

Se desconoce el grado de protección que confieren las madres a su prole al ser vacunadas contra la IBF junto con sustancias como son el *Acemannan* y el *Yatrén-caseína* ante un desafío con *Salmonella enteritidis* o el virus de la infección de la bolsa de Fabricio, por lo que es conveniente determinar su efecto y su posible uso como adyuvantes en la vacunación en gallinas reproductoras pesadas, para obtener un mayor beneficio económico.

OBJETIVOS

- Evaluar la inmunidad contra la Infección de la bolsa de Fabricio en gallinas reproductoras pesadas vacunadas contra la IBF adicionando *Acemannan* o *Yatrén-caseína*.
- Determinar los parámetros productivos de las parvadas de gallinas reproductoras y estimar el beneficio del *Acemannan* y del *Yatrén-caseína* como adyuvantes durante la vacunación.
- Evaluar mediante el índice bursal, el índice metatarso bursal, la morbilidad, mortalidad, serología y cuantificación de lesiones histológicas bursales, si las aves vacunadas contra IBF en combinación con *Acemannan* o con *Yatrén-caseína*, confieren una mayor protección a su progenie ante un desafío con virus de campo de IBF.
- Evaluar la inmunidad celular en pollos de un día de edad, obtenidos de gallinas reproductoras pesadas inmunoestimuladas, a través del desafío con *Salmonella enteritidis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron las instalaciones de una granja comercial de gallinas reproductoras pesadas localizada en el municipio de Tepetlixpa, Edo. de México y una incubadora comercial en Cuautla, Mor., a una altitud de 1300 msnm, entre los paralelos 18° 49´ latitud Norte y 98° 57´ latitud Oeste y los desafíos se realizaron en unidades de aislamiento del Departamento de Producción Animal Aves (DPAA) de la F.M.V.Z., UNAM, con las siguientes condiciones climáticas: a una altitud de 2240 msnm, entre los paralelos 19° 15´ latitud Oeste, con una precipitación pluvial media de 747 mm (26).

ADYUVANTES

*Acemannan**:

<i>Aloe vera</i>	73 g
Vehículo cbp	100 ml
Lote Núm. 60103	

*Yatrén-caseína***:

Yatrén	2.340 g
Caseína libre de protoalbúmina	5 g
Vehículo cbp	100 ml
Núm. de serie 719	

* Solvay Animal, Health Inc.

** Bayer de México S.A.

EXPERIMENTO 1

ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Se utilizaron 8,800 gallinas reproductoras pesadas de 18 semanas de edad (Peterson x Avian Farm), con una relación macho:hembra de 1:12, que fueron alojadas durante 50 semanas en una granja comercial ubicada en el Municipio de Tepetlixpa, Edo. de México. A las aves se les proporcionó alimento balanceado comercial controlado y agua *ad libitum*.

DISEÑO EXPERIMENTAL.

Las parvadas fueron asignadas aleatoriamente en cuatro grupos. A las 18 semanas de edad se les administraron los adyuvantes por vía intramuscular, mezclados con la vacuna emulsionada con virus inactivado de IBF*. Los grupos y la dosis de los adyuvantes se muestran a continuación:

GRUPO	ADYUVANTES	DOSIS
1	ACEMANNAN	0.2 ml
2	ACEMANNAN	0.4 ml
3	YATRÉN-CASEÍNA	0.2 ml
4	SIN INMUNOESTIMULANTE	_____

Nota: Debido a que son aves comerciales en producción no se pudo dejar un grupo de individuos sin vacunar contra IBF, debido al alto riesgo de no transmitir anticuerpos maternos al pollo de engorda.

* Cepa D-78. Lab. Intervet de Mex. S.A. Lote No. 32007

PARAMETROS PRODUCTIVOS EVALUADOS

I. Nivel de anticuerpos:

Cada 4 semanas, durante 7 meses, 15 animales de cada grupo fueron sangrados por vía vena cefálica para determinar el nivel de anticuerpos contra IBF por medio de la prueba de virus suero neutralización (VSN) según la técnica reportada por Winterfield *et al* (91).

II. Fertilidad e Incubabilidad:

Se realizaron dos evaluaciones en las gallinas reproductoras a diferentes edades, a las 40 y 50 semanas. En adelante se mencionaran como Reproductoras Inmunestimuladas de 40 y 50 semanas de edad (**RIE 40 y RIE 50**).

En cada evaluación se recolectó el huevo de cada grupo y se realizó un muestreo aleatorio simple, separando 2 charolas de 162 huevos cada una, obteniendo un total de 324 huevos por grupo. Posteriormente se incubaron en una incubadora comercial localizada en el Edo. de Morelos. Las condiciones fueron: incubadora 37.7 °C y 55 % humedad relativa durante 18 días, nacedora 37.2 °C y 65 % humedad relativa durante 3 días.

El porcentaje de infertilidad se calculó con base en el número de huevos sin desarrollo embrionario y el porcentaje de incubabilidad se determinó con base en el número de pollitos nacidos como el porcentaje de huevos colocados.

Se les realizó el embriodiagnóstico a los huevos que desarrollaron embrión y no nacieron, técnica mediante la cual se evaluaron las posibles causas de mortalidad embrionaria y se determinó el porcentaje de mortalidad en los cuatro grupos. De acuerdo a la edad de incubación de los embriones se formaron 4 grupos: el I correspondió a los embriones muertos de 0-4 días de incubación, el II a los muertos de 5-10 días, el III a los muertos de 11-17 y el IV a los muertos de 18-21 días (7). En los pollitos nacidos se determinó según sus características clínicas, el porcentaje de pollos de primera y de segunda.

EXPERIMENTO DOS

ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Se utilizaron 80 pollos de engorda de un día de edad, Peterson x Avian Farm, sin sexar, obtenidos de las siguientes parvadas de reproductoras del experimento uno:

G R U P O	ADYUVANTES	D O S I S	PROGENIE (n)
1	ACEMANNAN	0.2 ml	20
2	ACEMANNAN	0.4 ml	20
3	YATRÉN-CASEÍNA	0.2 ml	20
4	SIN INMUNOESTIMULANTE	_____	20

Los adyuvantes fueron administrados a las reproductoras por vía intramuscular junto con la vacuna emulsionada con virus inactivo de IBF, a las 18 semanas de edad.

CEPA VIRAL PARA DESAFÍO CONTRA LA INFECCIÓN DE LA BOLSA DE FABRICIO.

Se utilizó una cepa de campo de Avibirnavirus donada por el Depto. de Microbiología, F.M.V.Z., UNAM., con la que se realizaron dos pases en pollos susceptibles y se estandarizó el inoculo con un título de $10^{3.2}$ DICCC/ml 50% (77).

DISEÑO EXPERIMENTAL

La progenie fue evaluada cuando las gallinas reproductoras tuvieron 40 y 50 semanas de edad. En cada evaluación se utilizaron 20 pollos de un día de edad, de la progenie de cada grupo y fueron alojados en baterías eléctricas de las unidades de aislamiento del D.P.A.A., FMVZ, UNAM., en grupos de 10 aves. A los pollos se les proporcionó alimento balanceado comercial y agua *ad libitum* durante 2 semanas. Antes de iniciar el experimento se realizaron cultivos bacteriológicos en medios estándares, de la paja de transporte, alimento y de 10 pollitos de cada grupo para descartar la presencia de

bacterias patógenas. Además, se obtuvieron muestras de sangre de la vena yugular para determinar la concentración de anticuerpos contra IBF mediante la técnica de VSN

Las aves de cada grupo fueron desafiadas con el virus de la IBF al cuarto día de edad, con una dosis de 0.3 ml en cada ojo y 0.3 ml en el orificio cloacal (un total de 0.9 ml/ ave). Durante los 10 días siguientes se registró la morbilidad y la mortalidad. Al decimo día post inoculación todas las aves de cada grupo fueron pesadas, se obtuvo sangre de vena cefálica y se sacrificaron por dislocación cervical. Posteriormente se midió el largo del metatarso del miembro izquierdo, así como el diámetro y peso de las bolsas de Fabricio que se colocaron en frascos con formalina 10%, debidamente rotulados.

ESTUDIO SEROLÓGICO

Se procesaron las muestras de suero de cada grupo para determinar los niveles de anticuerpos contra la IBF por medio de la prueba de VSN según la técnica reportada por Winterfield *et al* (91).

ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO

Después de 48 horas de fijación, se realizaron cortes transversales de las bolsas de Fabricio y se procesaron mediante la técnica convencional de Hematoxilina-eosina, para cuantificar la lesión bursal.

LESIÓN BURSAL

Se agruparon las lesiones en agudas, subagudas y crónicas y para cada una se calificaron dos aspectos: distribución y severidad. Los valores obtenidos se sumaron y se clasificaron según la escala reportada por Casaubón y col. (15,16).

A continuación se presenta la escala de la distribución y de la severidad con su equivalencia. a) *Porcentaje de distribución.*- Con valores entre 1-4 según el área de

distribución. 1: 0-25 %	2: 26-50 %
3: 51-75 %	4: 76-100%.

B) *Severidad*.- Se dieron valores entre 0 y 3.

1. Lesiones agudas: etapa inicial del proceso inflamatorio que se caracteriza por cambios vasculares muy evidentes, acumulo de exudado seroso principalmente y es muy evidente la presencia de detritus nucleares debido a necrosis (84).

1.1. Congestión y/o hemorragia.-

0: Ausencia.

1: Escasa congestión, principalmente en el tallo de las plicas.

2: Congestión en tallo y espacio subepitelial.

3: Congestión y hemorragias en: tallo, folículos, espacio subepitelial, médula y corteza de los folículos.

1.2. Edema.- 0: Ausencia.

1: Escasa separación entre el epitelio y los folículos linfoides en las puntas de las plicas.

2: Separación moderada del estroma conjuntivo en el tallo, espacio subepitelial y entre algunos folículos linfoides de las plicas.

3: Separaciones amplias del estroma en toda la plica.

1.3. Infiltración por mononucleares en el estroma conjuntivo.-

0: Ausencia.

1: Escasa infiltración.

2: Moderada infiltración.

3: Severa infiltración.

1.4. Infiltración por heterófilos en el estroma conjuntivo.-

0: Ausencia.

1: Escasa cantidad de heterófilos.

2: Moderada cantidad de heterófilos.

3: Abundante cantidad de heterófilos.

1.5. Necrosis de linfocitos y macrófagos de los folículos linfoides.-

- 0: Ausencia de células afectadas.
- 1: Escasa cantidad de células afectadas.
- 2: Moderada cantidad de células afectadas.
- 3: Gran cantidad de células afectadas.

2. Lesiones subagudas: en general en esta etapa de evolución de la inflamación disminuye la cantidad de exudado seroso y de cambios vasculares, se incrementa la cantidad de linfocitos mononucleares y polimorfonucleares, se aprecia incremento leve de fibroblastos y ausencia de detritos nucleares por haber sido ya fagocitados (84).

2.1. Depleción.- Es la pérdida de células linfoides en la médula o en la corteza, generalmente se hacen más evidentes las células reticulares preexistentes o en proliferación.

- 0: Folículo normal.
- 1: Ausencia escasa de linfocitos, resalta poco las células reticulares.
- 2: Es moderada la ausencia de linfocitos y moderada la presencia de células reticulares.
- 3: Ausencia severa de linfocitos.

2.2. Hiperplasia epitelial.- Ésta se manifiesta por la invaginación del epitelio de revestimiento de las plicas.

- 0: Epitelio normal.
- 1: La invaginación epitelial es leve.
- 2: La invaginación epitelial es moderada.
- 3: La invaginación epitelial es severa.

2.3. Quistes en el epitelio.- Comprende desde la formación de pequeñas vacuolas hasta quistes propiamente dicho.

- 0: Epitelio normal.
- 1: Formación de pequeñas y escasas vacuolas en el epitelio.
- 2: Unión de vacuolas o formación de moderada cantidad de pequeños quistes.
- 3: Presencia de amplios y múltiples quistes epiteliales.

2.4. Hiperplasia de células reticulares.- Al presentarse la depresión, son muy evidentes las células reticulares y su multiplicación.

0: Médula del folículo normal.

1: Escasa cantidad de células reticulares.

2: Moderada cantidad de reticulares.

3: Las células ocupan la totalidad de la médula folicular.

3. Lesiones crónicas: en general esta etapa se caracteriza por atrofia folicular, fibroplasia y ausencia de linfocitos en el estroma de las plicas (84).

3.1. Hiperplasia de células corticomedulares.- Al igual que las células reticulares, al multiplicarse éstas ocupan los espacios vacíos debidos a la depresión linfoide y llegan a sustituir todo el tejido linfoide de los folículos.

0: Epitelio corticomedular en una hilera.

1: Evidencia de hiperplasia leve del epitelio corticomedular.

2: Proliferación moderada del epitelio corticomedular.

3: El epitelio corticomedular ocupan la mayor parte del folículo.

3.2. Fibrosis.- Es la proliferación del tejido conectivo interfolicular o en el tallo de la plica.

0: Plicas normales.

1: Proliferación leve del tejido conectivo.

2: Cantidad moderada de tejido conectivo en el tallo de las plicas, interfolicular y subepitelial.

3: Abundante tejido conectivo interfolicular, en el tallo y subepitelial.

3.3. Quistes intrafoliculares.- Al igual que en el epitelio, los quistes intrafoliculares van desde la vacuolización de la zona medular folicular hasta la formación de quistes que ocupan todo el folículo.

0: Folículo normal.

1: Vacuolización en la médula del folículo.

2: Formación de quistes pequeños que ocupan parte de la zona medular del folículo. 3: Quistes que ocupan la totalidad del folículo.

3.4. Atrofia folicular.- Es la pérdida del tamaño normal del folículo.

0: Folículos normales.

1: Folículos levemente disminuidos de tamaño.

2: Disminución del tamaño del folículo hasta la mitad del tamaño normal.

3: Folículos de un tercio del tamaño o menor cantidad de folículos por plica.

3.5. Aspecto adenoide.-

0: Folias normales.

1: Se presenta invaginación epitelial en algunas áreas formando espacios irregulares, recubiertos de epitelio cuboidal.

2: La invaginación del epitelio afecta al rededor del 50 % del epitelio de las plicas.

3: La totalidad del epitelio sufrió invaginación formandose abundantes espacios intrafolículos cerrados, revestidos por epitelio cuboidal.

ÍNDICE BURSAL

Se dividió el peso de la bolsa entre el peso corporal y el resultado fue multiplicado por cien. El IB se utilizó para evaluar atrofia de la bolsa, según lo reportado por Guerrero y col. (41).

$$\text{Índice Bursal} = \frac{\text{peso de la bolsa}}{\text{peso corporal}} \times 100$$

RANGO METATARSO BURSAL

Se dividió el diámetro de la bolsa de Fabricio entre el largo del metatarso, el producto se multiplicó por cien. Los valores finales fueron evaluados según la escala reportada por Rountree (74). Este método se utilizó para evaluar la posible atrofia de la bolsa de Fabricio causada por el virus de IBF empleado para el desafío.

$$\text{Rango Metatarso Bursal} = \frac{\text{diámetro de la bolsa de Fabricio}}{\text{largo del metatarso}} \times 100$$

EXPERIMENTO TRES

ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Se utilizaron 80 pollos de engorda de un día de edad, Peterson x Avian Farm, sin sexar, obtenidos de las siguientes parvadas de reproductoras del experimento uno:

GRUPO	ADYUVANTES	DOSIS	PROGENIE (n)
1	<i>ACEMANNAN</i>	0.2 ml	20
2	<i>ACEMANNAN</i>	0.4 ml	20
3	<i>YATRÉN-CASEÍNA</i>	0.2 ml	20
4	SIN INMUNOESTIMULANTE	_____	20

Los adyuvantes fueron administrados por vía intramuscular mezclados con la vacuna emulsionada con virus inactivado de IBF, a las 18 semanas de edad.

Salmonella enteritidis PARA DESAFÍO

Se utilizó una cepa proporcionada por el Laboratorio Nacional de Servicios Veterinarios (NVSL) en Ames, Iowa, EUA. aprobada por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) por su resistencia al Ácido Nalidíxico (NA) y a la Novobiocina (NO) que se mantuvo en agar nutritivo. El medio de cultivo que se utilizó para el aislamiento fue Agar Verde Brillante (AVB) con 25 µg/ml de NO y 200 µg/ml de NA para evitar el crecimiento de otras bacterias. El inóculo para el desafío se preparó con solución (amortiguadora) salina fosfatada (PBS) estéril. La concentración de células viables del inóculo se determinó mediante espectrofotometría y conteo de colonias en placas de AVB, la cual se estandarizó a 10^6 unidades formadoras de colonias (UFC)/ml y se inoculó según el diseño experimental.

DISEÑO EXPERIMENTAL

La progenie fue evaluada cuando las gallinas reproductoras tuvieron 40 y 50 semanas de edad. Se utilizaron 20 pollos de un día de edad de cada grupo y se alojaron en grupos de 10 aves en baterías eléctricas de las unidades de aislamiento del D.P.A.A., de la FMVZ, UNAM.. A los pollos se les proporcionó alimento balanceado comercial y agua *ad libitum* durante ocho días. Antes del experimento se realizaron cultivos bacteriológicos en medios de AVB de la paja de transporte, alimento y de 10 pollitos para descartar la presencia de *Salmonella sp.*.

Al cuarto día de edad, todas las aves de cada grupo fueron desafiadas con *Salmonella enteritidis* por vía oral con una dosis de 10^6 UFC. Se registró diariamente morbilidad y mortalidad de las aves.

ESTUDIO BACTERIOLOGICO

Al segundo día post inoculación, las aves fueron pesadas, sacrificadas por dislocación cervical. Inmediatamente después del sacrificio de las aves se procedió a tomar muestras asépticamente de hígado, bazo y tonsilas cecales, se trabajó el hígado y el bazo

como una sola muestra, se mezclaron con caldo tetracionato y se incubaron durante 18 horas a 37°C. Después de este período el caldo fue homogeneizado y sembrado en placas de AVB e incubados por un período adicional de 24 horas a 37°C. Posteriormente se determinó la presencia de colonias lactosa negativas y resistentes a NA-NO.

ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO

Después de la toma de muestra para bacteriológico, se tomó el tejido del ciego derecho de cada una de las aves y se colocó en formalina al 10 %, durante 48 horas, para su fijación. Posteriormente se realizaron cortes transversales del tejido y se procesaron mediante la técnica convencional de Hematoxilina-eosina para determinar el grado de infiltración de células del sistema inmune y lesiones en el tejido.

EVALUACIÓN HISTOLÓGICA DE LOS CIEGOS.

Se evaluaron las lesiones de acuerdo al grado de severidad en una escala de 0 a 3 donde 0=sin lesión, 1=leve, 2=moderado y 3=severo, considerando las siguientes cambios en el tejido: Ausencia de pliegues, infiltración de heterófilos e infiltración de linfocitos en mucosa y en submucosa. Posteriormente se calculó el promedio de los cambios histológicos para su análisis estadístico.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Experimento I.

Para evaluar el comportamiento de los niveles de anticuerpos de cada uno de los inmunoestimulantes, se ajustó el modelo de regresión lineal múltiple, el denominado raíz cuadrada (23,72), representado en la siguiente ecuación:

$$Y_{it} = \beta_0 + \beta_1 X_{it} + \beta_2 X_{it}^{1/2} + E_{it}$$

donde; para simplificar la notación:

$t = 18, 22, 26, 32, 38, 42$ y 50 semanas.

Y_{it} = es el nivel promedio de anticuerpos presentados en la i -ésima repetición,

$1 \leq i \leq 15$, de la semana t .

X_{it} = es el valor de la semana t . $X_{it}^{1/2}$ = es el raíz cuadrada de la semana t .

$\beta_0, \beta_1, \beta_2$ = parámetros a estimar.

E_{it} = es una variable aleatoria tal que $E_{it} \sim N(0, \sigma^2)$, $1 \leq i \leq 15$, e independiente.

El modelo raíz cuadrada de cada uno de los inmunoestimulantes fue comparado con respecto al grupo 4 (**testigo**), bajo el criterio de ser ésta la práctica común de vacunación en la granja. Para este caso, se utilizó la técnica de variables binarias de Gujarati (42).

El modelo conjunto fue:

$$Y_{it} = \alpha_0 + \alpha_1 D_1 + \alpha_2 D_2 + \alpha_3 D_3 + \beta_1 X_{it} + \beta_2 (D_1 X_{it}) + \beta_3 (D_2$$

$$X_{it}) + \beta_4 (D_3 X_{it}) + \delta_1 X_{it}^{1/2} + \delta_2 (D_1 X_{it}^{1/2}) + \delta_3 (D_2 X_{it}^{1/2})$$

$$+ \delta_4 (D_3 X_{it}^{1/2}) + E_{it}.$$

donde; para simplificar la notación: $t = 18, 22, 26, 32, 38, 42$ y 50 semanas.

Y_{it} = es el nivel promedio de anticuerpos presentados en la i -ésima repetición,

$1 \leq i \leq 15$, de la semana t .

X_{it} = es el valor de la semana t . $X_{it}^{1/2}$ = es el raíz cuadrada de la semana t .

$\beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_4, \alpha_0, \alpha_1, \alpha_2, \alpha_3, \delta_0, \delta_1, \delta_2, \delta_3$ = parámetros a estimar.

D_1 = 1 si la observación es del grupo 1, 0 de otro modo.

D_2 = 1 si la observación es del grupo 2, 0 de otro modo.

D_3 = 1 si la observación es del grupo 3, 0 de otro modo.

E_{it} = es una variable aleatoria tal que $E_{it} \cap N(0, \sigma^2)$, $1 \leq i \leq 15$, e independiente.

El porcentaje de nacimientos y porcentaje de mortalidad embrionaria se evaluó mediante la prueba de Ji-cuadrada.

Experimento II

Las diferencias entre Índice bursal v Índice metatarso bursal se determinaron por medio de un análisis de varianza. Las diferencias significativas fueron evaluadas mediante la prueba múltiple de Duncan con el paquete estadístico *Statistical Analytical System* (S.A.S.).

La concentración de anticuerpos se analizó de igual manera después de su transformación $TRAS = \text{Log}(\text{Título} + 1)$, para cumplir los supuestos del método de cuadrados mínimos (8,77,93).

Los valores de las lesiones bursales se analizaron por medio de la prueba no paramétrica Kruskal Wallis y las diferencias entre grupos se encontraron mediante la prueba Willcoxon con el paquete estadístico S.A.S. (93).

Experimento III

Se realizaron análisis de Ji-cuadrada para determinar las diferencias significativas para la invasión de órganos por *Salmonella enteritidis*. Las diferencias entre las lesiones se analizaron por medio de la prueba no paramétrica Kruskal Wallis y las diferencias entre grupos se encontraron mediante la prueba Willcoxon con el paquete estadístico S.A.S. (93).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

EXPERIMENTO 1

Fertilidad e incubabilidad .

El mayor porcentaje de fertilidad en la evaluación de RIE 40, fue para el grupo sin estimulante (*testigo*), el cual superó por 2.5 % al grupo *acemannan* 0.2 ml (*acem 0.2*), por 2.2 % al grupo *yatrén caseína* (*ya-ca*) y por 1.6% al grupo *acemannan* 0.4 ml (*acem 0.4*). Sin embargo, no se encontró diferencia significativa ($P > 0.05$) entre los grupos (cuadro 1).

En lo referente a clasificación de calidad de los pollos nacidos, el grupo *acem 0.4* no tuvo pollo de segunda, mientras que los otros grupos *acem 0.2*, *ya-ca* y *testigo* alcanzaron un porcentaje de 0.62, 0.94 y 1.25 respectivamente. El porcentaje de pollo de primera en los cuatro grupos estuvo alrededor del 90 %, sin encontrarse diferencia estadística significativa ($P > 0.05$) (cuadro 1).

Varios autores han reportado que el porcentaje normal de mortalidad embrionaria en los primeros 7 días de incubación es de hasta 2 % (66,71). Los porcentajes de mortalidad en los cuatro grupos no rebasaron los límites normales, a excepción de los grupos *acem 0.2* y *testigo*, que tuvieron un porcentaje alto en embriones muertos a los 11-17 días de incubación en relación a lo reportado por Barbosa, E.J. como normal (7). Pero este valor no representó diferencia estadística con los otros grupos, al ser analizados los datos con la prueba de Ji-cuadrada.

Las muertes embrionarias por malformaciones fueron en el grupo: *acem 0.4*, un embrión con ausencia de cabeza, en el *testigo*, dos embriones con malposición y uno con ausencia de ojos y en *ya-ca*, dos con pico de tijera.

La presencia de embriones con deformidades es muy común en todas las parvadas y básicamente se debe a deficiencias nutricionales en la dieta de las gallinas reproductoras y a inadecuadas temperaturas durante la incubación (66,71). En nuestro estudio el número de embriones con deformidades resultó mínimo en relación a los datos observados por North y Bell (66).

Cuando se evaluó RIE 50, la mortalidad embrionaria rebasó los límites normales en los cuatro grupos (cuadro 2), y la cantidad de huevo fértil contaminado aumentó en los

cuatro grupos con respecto a la evaluación anterior mientras que la infertilidad solo se vió aumentada en el grupo testigo pero sin rebasar el 5 % que se considera también normal (71).

Con respecto a la calidad del pollo, el porcentaje de pollo de primera fue afectada en los 4 grupos; el grupo testigo disminuyó 6.3 % y en los grupos tratados *acem* 0.2, *acem* 0.4 y *ya-ca* fue de 3.5, 6.1 y 8.2 % respectivamente (cuadro 1 y 2).

El porcentaje de pollo de segunda aumentó solo en los grupos *acem* 0.2, *acem* 0.4 y *ya-ca* con respecto a la evaluación anterior (cuadro 1 y 2).

La disminución del porcentaje de nacimientos (incubabilidad) y el aumento de mortalidad embrionaria en RIE 50 puede estar influenciado por la edad de las reproductoras, ya que a medida que las gallinas envejecen, la incubabilidad disminuye debido al aumento en el tamaño de los huevos y a la disminución del espesor del cascarón (71,66).

Nivel de anticuerpos

En la gráfica 1 están representados los títulos de VSN contra IBF de los cuatro grupos de RIE y en las gráficas 2 y 3, se presentan los niveles de anticuerpos contra IBF inducidos para cada uno de los grupos a partir de las 18 semanas junto con el modelo de regresión raíz cuadrada.

Desde el primer muestreo post inmunización, los niveles de anticuerpos inducidos al utilizar *acem* 0.2, fueron superiores al testigo. Al comparar estas observaciones con los niveles de anticuerpos inducidos por el *acem* 0.4 y *ya-ca*, se puede apreciar un comportamiento similar, lo que viene a confirmar los resultados obtenidos por otros investigadores (gráfica 1) (21,47).

En efecto, Chinnan A.D. reportó que el *acemannan* induce un mayor título de anticuerpos cuando es empleado como adyuvante en la vacunación contra el virus de la IBF, debido a su acción inmunoestimulante y a su poder para activar los linfocitos T, linfocitos B, macrófagos y la médula ósea (21).

Al comparar los títulos de anticuerpos inducidos por los grupos tratados con respecto al grupo testigo, se puede apreciar que este último tuvo niveles más bajos en los 3 primeros muestreos, presentando un incremento a partir del cuarto muestreo y teniendo un decremento más rápido que los grupos tratados (gráfica 1). Este efecto de estimulación también se ha observado con otros adyuvantes como lo reporta Naqui *et al.*, quienes vacunaron a gallinas reproductoras a las 18 semanas contra la IBF junto con un adyuvante de aceite, el cual estimuló títulos de anticuerpos en VSN superiores a 5 log base 10, durante 10 meses de producción (65).

El análisis estadístico para los niveles de anticuerpos obtenidos en cada uno de los grupos sometidos al estudio, se muestra en el cuadro 3. En este cuadro se aprecia el valor estimado para los parámetros β_0 , β_1 y β_2 , así como el coeficiente de determinación R^2 para cada uno de los inmunoestimulantes y el grupo testigo.

Debe recordarse que el porcentaje de variación de R^2 , cuyos valores están comprendidos entre $0 \leq R^2 \leq 1$, indica la porción de variación total en "Y" de la muestra, que es explicada por la regresión de Y sobre "X" (23). Nótese que el valor de R^2 más pequeño que se obtuvo con este modelo, fue el correspondiente al grupo testigo (0.727) y el de mayor magnitud que se aproxima más a la curva de regresión fue de 0.910, correspondiente al grupo acem 0.2. Es decir que aproximadamente el 90 % de la variación total del Y_i es explicada por la regresión.

El valor estimado de β_0 en los 4 grupos fue negativo (cuadro 3), lo cual se puede deber a que a las 18 semanas, cuando fueron estimuladas las gallinas, éstas ya presentaban anticuerpos contra la IBF.

En el cuadro 4 se ilustra las comparaciones entre los adyuvantes en estudio, a través de la técnica de variables binarias de Gujarati (42). En este modelo cada uno de los adyuvantes se comparó con el grupo testigo como referencia, siendo el valor de R^2 de 0.69. En estudios realizados por Ramírez, M.M., al utilizar esta técnica para evaluar 5 vacunas,

logro obtener valores de R^2 superiores al 0.90. Sin embargo, su trabajo se realizó bajo condiciones muy controladas en unidades de aislamiento, mientras que la evaluación en el presente estudio fue en casetas para aves comerciales (72).

En lo referente a las diferencias entre las curvas de regresión se puede apreciar que el grupo de acem 0.2, muestra diferencia significativa ($P < 0.05$), tanto en el efecto de pendiente como en el de raíz cuadrada ($P < 0.05$), ésto nos indica que las aves vacunadas con *acemannan* 0.2 ml lograron estimular y mantener mejores niveles de anticuerpos que las aves que fueron vacunadas sin adyuvante.

En lo que respecta a la comparación de los grupos: ya-ca y acem 0.4, mostraron una diferencia en el efecto de raíz cuadrada, lo cual indica que las aves vacunadas con *yatrén caseína* o con *acemannan* 0.4 ml, solo en los últimos muestreos mantuvieron mejores niveles de anticuerpos en relación al grupo testigo (cuadro 4).

EXPERIMENTO 2.

Evaluación de algunos parámetros de la progenie de RIE desafiada con el virus de IBF.

Ganancia de peso.

En el cuadro 5, se observan los promedios de peso corporal (g) al primer día de edad de la progenie de RIE 40, sin detectarse diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los cuatro grupos.

Sin embargo, cuando estas aves fueron sacrificadas al 15° día, el grupo acem 0.2 obtuvo un peso promedio de 273.12 g. Este promedio resultó mayor a los promedios de los grupos acem 0.4 y testigo, mostrando una diferencia significativa (cuadro5).

Los resultados de la progenie de RIE 50 fueron similares a los de la progenie RIE 40. En RIE 50 los promedios al día de edad no se encontró diferencia significativa pero cuando las aves fueron pesadas al 15° día, el grupo acem 0.2 obtuvo el mayor promedio, que fue significativamente diferente solo con el grupo testigo (cuadro 6).

Signología.

No se observó mortalidad, ni signología al cabo de las dos evaluaciones en ningún grupo de la progenie de RIE, tras ser desafiadas contra el virus de la IBF. Ésto puede deberse probablemente a la alta inmunidad pasiva de los pollos y/o a la edad en que fueron desafiados (13,22). En aves menores de dos semanas de edad, la enfermedad se presenta en forma subclínica, mientras que en aves de mayor edad el curso se caracteriza por una alta morbilidad y variable mortalidad, debido a la variación de virulencia entre algunas cepas de IBF (8,22,54,57,61).

Análisis del nivel de anticuerpos en contra el virus de la IBF.

El hecho de detectar en la progenie al día de edad, títulos entre 1:4,160 y 1:10,965 en los grupos testigos de RIE 40 y 50 respectivamente (cuadro 7 y 8), indica que la vacunación de las reproductoras fue eficaz y suficiente ante un desafío en la etapa crítica de las primeras semanas de edad (53,81).

Solo en la progenie de RIE 40, los títulos de *acemannan* a diferentes dosis y *Yatrén caseína* indujeron niveles significativamente mayores a los apreciados en los testigos por lo que pudiera pensarse que los adyuvantes empleados favorecen la respuesta humoral. Sin embargo, no es posible aseverar dicha deducción ya que en la progenie de RIE 50 los niveles fueron tan altos como en RIE 40 pero no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) en relación al testigo, para lo cual no se encontró explicación.

Ante un desafío de la progenie de RIE 40 y 50 no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) debidas a los tratamientos y se apreció únicamente una disminución drástica de los niveles de anticuerpos sin ser anulados en ninguno de los grupos (cuadros 7 y 8).

Se concluye que la inmunidad pasiva inducida por los dos adyuvantes fue variable e impredecible lo cual coincide con lo observado por otros autores que señalan que la función inmunoestimulante de los adyuvantes no incide particularmente sobre la respuesta humoral (6,67).

Evaluación del índice bursal (IB).

El comportamiento del IB se muestra en el cuadro 9 para los 4 grupos, donde se aprecia que el mayor promedio fue obtenido por el grupo ya-ca (0.211), seguido por los grupos acem 0.2, acem 0.4 y testigo de (0.203, 0.192 y 0.170 respectivamente), sin encontrarse diferencias significativas ($p > 0.05$). Con respecto al promedio del peso de la bolsa de Fabricio, el grupo ya-ca logró obtener un mayor peso, mostrando diferencia significativa solo con el grupo acem 0.4.

En aves sanas el IB frecuentemente permanece constante durante la 3^o y 6^o semana de edad cuando no son desafiadas (49). Con base en lo reportado por Mazariegos, *et al.* que consideran como indicadores de atrofia valores de $IB = 0.23$, se puede deducir que en el presente estudio la inmunoestimulación de las reproductoras no indujo niveles de anticuerpos suficientes ante el virus de desafío que provocó atrofia de la bolsa de Fabricio en estos grupos en forma semejante a la sufrida por la progenie del grupo testigo (58).

Evaluación del índice metatarso bursal (IMB).

En el presente estudio a pesar de encontrarse varias diferencias en el largo del metatarso y diámetro de la bolsa, al realizar los cálculos del índice metatarso bursal, no se encontraron diferencias significativas entre los cuatro grupos (cuadro 10).

Rountree menciona que el tamaño de la bolsa de Fabricio no es suficiente para evaluar el estado inmune del ave por esto se propuso medir el largo del metatarso, para determinar el desarrollo corporal del ave, ya que éste no se ve afectada por estados de inmunodepresión (74).

Un resultado en la prueba de IMB de:

20 o más se le asigna un valor de 3 (normal).

17-19 un valor de 2 (bolsa de Fabricio en proceso de depleción).

16 o menos, un valor 1 (bolsa de Fabricio en depleción) (1,74).

Con base en dicha escala, los valores encontrados en las tomas de muestra de todos los grupos no se apreció diferencia significativa ($P > 0.05$) y los valores se encuentran entre

16 y 19 lo que nos indica que las bolsas se encuentran en proceso de atrofia, sin encontrar alguna relación con los niveles de anticuerpos, lo cual concuerda con los estudios realizados por Sánchez, B.C., quien menciona que el IB y el IMB no reflejan el estado inmune (título de anticuerpos) de las aves (77).

Lesión bursal.

Las lesiones microscópicas de las bolsas de Fabricio tales como: atrofia folicular, fibrosis, infiltración de heterófilos en tejido interfolicular, edema, necrosis, quistes epiteliales e intrafoliculares entre otros, observadas en la progenie de RIE 40 y RIE 50 concuerdan con las reportadas en la evolución de IBF en la literatura (22).

En el cuadro 11 se observan los grados de lesión de las bolsas de Fabricio de la progenie de RIE 40 y 50, en donde se aprecia que solo en RIE 40 el grupo acem 0.4 mostró una mayor diferencia significativa.

En todas las bolsas de Fabricio estudiadas se observaron simultáneamente lesiones de tipo agudo, subagudo y crónico en diferente grado de severidad entre leve y moderado (gráficas 4 y 5). La ausencia de lesiones de tipo severo pudiera deberse a la virulencia de la cepa de desafío (54).

Aunque la metodología propuesta por Casaubon *et al.* es útil para estudiar la protección conferida por vacunas ante desafíos de campo y establecer calendarios de vacunación precisos, en el presente estudio no parece reflejar la posible protección conferida por los adyuvantes (15,16). A través de dicha metodología se puede concluir que en el presente estudio la acción de los adyuvantes no evita la severidad de la lesión bursal.

EXPERIMENTO 3

Evaluación de algunos parámetros de la progenie de RIE desafiada con *S. enteritidis*.

Peso corporal.

En el cuadro 12 se muestra los promedios de los pesos corporales de los cuatro grupos de la progenie de RIE 40 y RIE 50 al primer día de edad. Los cuatro grupos alcanzaron un peso adecuado para ser considerados pollos de primera calidad (71).

Cuando la progenie de RIE 40 fue sacrificada al 6º día se observó una diferencia estadística significativa a favor del grupo acem 0.2 (cuadro 12), pero las de RIE 50 no muestran diferencia significativa entre los grupos (cuadro 13).

A través del presente estudio no puede aseverarse que el *acemannan* 0.2 ml influye en el peso de la progenie de RIE alcanzado a las 6 días de edad ya que en la progenie de RIE 50 no se apreciaron diferencias significativas entre los grupos en relación al testigo.

Signología.

Ni en RIE 40 ni en RIE 50 se observaron signos clínicos de Salmonelosis en ninguno de los grupos. Ésto concuerda con el trabajo reportado por Urquiza B.O., en el que se menciona que la mayoría de las cepas de *S. enteritidis* se localizan en los ciegos sin producir signos clínicos (89). Snoeyendos *et al.* demostraron que varios serotipos de *Salmonella* se pueden diseminar rápidamente en pollitos de un día de edad, sin provocar signología aparente (82). En contraste algunos autores han reportado que la mortalidad varía dependiendo del medio ambiente, cepa bacteriana y presencia de infecciones recurrentes (37,64). Aparentemente la cepa utilizada en este estudio no tiene esta característica.

Invasión de órganos por Salmonella enteritidis.

Los resultados del estudio bacteriológico realizado en los pollos, paja de transporte y alimento al inicio del experimento fueron negativos a la presencia de *Salmonella* sp.

A los dos días pos inoculación en la progenie de RIE 40 no se aisló *S. enteritidis* ni de los cultivos primarios de hígado-bazo, ni de tonsilas cecales, en ninguno de los grupos tratados. Mientras que, del grupo testigo se pudo recuperar *S. enteritidis* a partir de dos cultivos de la mezcla de hígado y bazo (cuadro 14). Sin embargo, este 10 % de aislamientos en el grupo testigo no representó diferencia significativa en relación con el 0 % de los grupos tratados.

Con el objetivo de evitar que la falta de aislamientos se deba a un corto periodo de incubación en los pollos, con la progenie de RIE 50 se dejó evolucionar la infección, dos días más.

Los resultados de la progenie de RIE 50 se pueden observar en el cuadro 15 y gráfica 6, donde se aprecia que los grupos con *acem* 0.2 y *acem* 0.4 presentaron un porcentaje de invasión significativamente menor ($p < 0.05$) que en los grupos *ya-ca* y testigo, a partir de bazo e hígado del 63.6 y 68 % contra 92.3 y 100 % respectivamente.

Esta diferencia también se ve reflejada en los aislamientos a partir de ciegos. Se obtuvieron significativamente ($p < 0.05$) menos porcentaje de aislamientos en los dos grupos de *acemannan* en relación con *ya-ca* y el testigo (cuadro 15, gráfica 7).

El hecho de no haber aislado *Salmonella* de los ciegos en la progenie de RIE 40 pudo deberse a que la bacteria ya no se encontraba en el lumen intestinal y se localizaba dentro del epitelio del intestino. Turnbull *et al.* mencionan que en pollitos de un día de edad, *S. enteritidis* puede invadir el epitelio y hasta la lamina propia del intestino antes de las 12 horas pos-inoculación (88). Esta invasión se ve favorecida en aves jóvenes probablemente debido a la ausencia de flora intestinal bacteriana que se establece en la pared intestinal (18).

En la progenie de RIE 50 la bacteria se aisló tanto del hígado y bazo como de ciegos (cuadro 15). Ésto pudo ser debido a que fueron dos días más de evolución de la infección en relación a la progenie de RIE 40. El aislamiento del ciego se puede entender analizando la patogenia de la enfermedad, ya que se señala que *Salmonella* después de

invadir el hígado, es eliminada por la bile y secretada al duodeno pudiéndose aislar a partir del lumen intestinal (18,64)

Cambios histológicos en los ciegos.

Los promedios de los cambios histológicos que se presentaron en los ciegos en la progenie de RIE 40 se pueden apreciar en el cuadro 16, donde se aprecia que los grupos tratados con inmunostimulantes tuvieron mayor infiltración de mononúcleares (linfocitos B, T, macrófagos) en lamina propia y mucosa en relación con el grupo testigo.

La infiltración de heterófilos se vio más marcada solo en los grupos con *acemannan*, lo cual tiene su importancia debido a que estas células constituyen el primer mecanismo de defensa celular (73). Por lo tanto, pudiera pensarse que la quimiotaxis se vio más favorecida por el *acemannan* que por ya-ca. Sin embargo, es importante señalar que la protección de la progenie en los primeros días de vida esta dada básicamente por la inmunidad conferida por la madre (66).

Asimismo, la infiltración de linfocitos en mucosa en forma difusa y en submucosa o lámina propia se vio favorecida en los grupos tratados (figura 1 y 2). Los linfocitos son importantes en el proceso de la respuesta inmune, ya que después de que los macrófagos han procesado y presentado el antígeno, los linfocitos son los encargados de iniciar la respuesta inmune humoral y celular (73,84). Ambas respuestas son necesarias para la resistencia a *Salmonella* (18). No obstante, hay evidencias que la respuesta inmune mediada por células es más importante para el control de esta bacteria (50).

A pesar del alto índice de heterófilos en el tejido, no se pudo observar a las bacterias cuando los cortes histológicos fueron teñidos con Gram. Este resultado fue similar a lo reportado por Turnbull *et al.* y no tiene aún, explicación (88).

El aumento de la infiltración de células linfoides y ausencia de necrosis concuerda con lo reportado por Chart *et al.*, que menciona que la lamina propia del ciego, ileum y colon de aves desafiadas con *S. enteritidis* mostraron una gran infiltración de células linfocíticas y que el epitelio no presentó lesión alguna en todos los sitios de examinación

(20). Sin embargo, en el presente estudio se observó atrofia y ausencia de pliegues en diferente grado de severidad, en la mucosa de los ciegos en todos los grupos de aves por lo cual no se encontró alguna explicación (cuadro 16).

En la progenie de RIE 50 en la que se dejó evolucionar la infección durante dos días más, en la infiltración de linfocitos no se observó ninguna diferencia significativa en los cuatro grupos y la infiltración de heterófilos fue mayor en el grupo testigo (cuadro 17). Ésto puede deberse a que en los grupos tratados la bacteria ya emigró a otros órganos. En efecto Clark *et al.* mencionan que después que *Salmonella* invadió el epitelio del intestino, las siguientes 24 horas ésta ya no se localiza en el lumen intestinal ni en los enterocitos, pero persiste en la lamina propia donde se multiplica en las células fagocíticas, lo cual la protege de los anticuerpos y del complemento (18).

Sin embargo, pudiera ser que con *acemannan* haya sido más eficaz la quimiotaxis y por lo tanto se inició más rápido el proceso inflamatorio por lo que la infiltración de heterófilos desaparece en los grupos tratados al disminuir más tempranamente la cantidad de antígeno.

Por lo que se pudiera pensar que los grupos de *acemannan* fueron más eficaces en cuanto a la estimulación del sistema inmune de base celular

CONCLUSIONES

--- Los adyuvantes indujeron mayores niveles de anticuerpos contra la Infección de la bolsa de Fabricio en las gallinas reproductoras pesadas. Sin embargo, no se encontró relación entre los títulos de anticuerpos encontrados en las reproductoras y la inmunidad transferida a la progenie.

--- El *acemannan* y el *yatrén caseína* administrados en las gallinas reproductoras pesadas no evitaron la severidad de la lesión bursal en su progenie ante el desafío del virus de la infección de la bolsa de Fabricio.

--- La respuesta inmune de base celular fue superior solo en la progenie de las aves vacunadas con *acemannan* y no con *yatrén caseína*, ante un desafío con *S. enteritidis*.

LITERATURA CITADA

1. Abasiokong, S.F.: Early prediction of performance in broilers: relationship between length of tarsometatarsus and weight gain. *British Poul. Sc.*, 27:345-347 (1986).
2. Altmeyer, R.M., McNern, J.K., Bossio, J.C., Rosenshine, Y., Finlay, B. and Galán, J.E.: Cloning and molecular characterization of a gene involved in *Salmonella* adherence and invasion of cultured epithelial cells. *Mol. Microbiol.*, 7:89-98 (1993).
3. Anonimo: Nuevo adyuvante pone en marcha el sistema inmune. *Ind. Avic.*, 39:20-24 (1992).
4. Archambault, D., Morin, G. and Elazhary, M.A.S.: Effect of sodium diethyl-dithiocarbamate, *Corynebacterium parvum* and *mycobacterium* cell wall extract on in vitro blastogenic responses of bovine lymphocytes. *Cornell Vet.*, 79:11-21 (1989).
5. Ashley, M.P., Neoh, S., Kotlarski, P. and Hardy, D.: Local and systemic effects in the non-specific tumor resistance induced by attenuated *Salmonella enteritidis* 11RX in mice. *Aust. J. Exp. Biol. Med.*, 54:157-168 (1976).
6. Bach, J.F.: *Inmunología*. Ed. *Limusa*, México, 1984.
7. Barbosa, E.J.E.: Control microbiológico de la planta incubadora. I curso de manejo para la prevención de problemas aviarios, México, D.F., 1988, 98-126 pag., *Fac.Med. Vet. Y Zoot., UNAM.*, México, D.F. (1989).
8. Berg, V.D. and Meulemans, G.: Acute infectious bursal disease in poultry: protection afforded by maternally derived antibodies and interference with live vaccination. *Avian Pathol.*, 20:409- 421 (1991).
9. Blecha, F.: Immunomodulation: a means of disease prevention in stressed livestock. *J. Anim. Sci.*, 66: 2084-2090 (1988).
10. Blodgett, D.F., Schuring, G.G. and Kornegay, E.T.: Immunomodulation in weaning swine with dietary selenium. *Am. J. Vet. Res.*, 47:1517-1519 (1986).
11. Box, P.: Health care with maternally derived antibodies. *Poul. Ind.*, 5:12-16 (1978).

12. Brien 'O.: *Salmonella enteritidis* infection in broiler chickens. *Vet. Rec.*, 122: 214 (1988).
13. Butcher, G. y Miles, R.: Prevención y control de Gumboro. *Ind. Avic.*, 40:8-10 (1993).
14. Campbell, P.A.: What T cells tell macrophages to do during resistance to listeriosis. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 239:13-22 (1988).
15. Casaubon, M., Altamirano, R. y Valladares, J.C.: Importancia de la cuantificación de la severidad de las lesiones bursales en el diagnóstico diferencial de la respuesta vacunal e infección de campo por Birnavirus. XIII Convención Nacional ANECA, Cancún, Q. Roo, 1991, 28-40 pag., ANECA, México (1993).
16. Casaubon, M., Altamirano, R. y Valladares, J.C.: Metodología para cuantificación del curso, severidad y distribución de las lesiones bursales. IV Jornada Médico Avícola, Mexico, D.F., 1993, 59-62 pag., *Fac. Med. Vet. y Zoot.*, UNAM, México (1993).
17. Ceniceros, R.M.A.: Diagnóstico por inmunofluorescencia. II Jornada Médico Avícola, México, D.F., 1991, 258-268 pag., *Fac. Med. Vet. y Zoot.*, UNAM., México (1991).
18. Clark, R.C. and Gyles, C.L.: *Salmonella*. In: Pathogenesis of bacterial infections in animals. Edited by: Gyles, C.L., Thoen, C.O., 95-110, *Iowa State University Press.*, Iowa, USA. 1988.
19. Cooper, G., Nicholas, R.A. and Bracewell, C.D.: Serological and bacteriological investigations of chickens from flocks naturally infected with *Salmonella enteritidis*. *Vet. Record*, 125: 567-572 (1989).
20. Chart, H., Rowe, B., Baskerville, A. and Humphrey, T.J.: Serological response of chickens to *Salmonella enteritidis* infection. *Epidemiol. Infect.*, 104: 63-71 (1990).
21. Chirnan, A.D., Baig, M.A., Tizard, I.R. and Kemp, M.C.: Antigen dependent adjuvant activity of a polydispersed beta-(1,4)-linked acetylated mannan (*acemannan*). *Vaccine*, 10:551-557 (1992).

22. Dongaonkar, V.D., Kolte, G.N. and Rao, K.N.: Some observations on the histopathology of experimentally infected chickens with infectious bursal disease virus. *Indian Vet. J.*, 59:541-545 (1979).
23. Draper, N. and Smith, H.: Applied Regression Analysis. *John Wiley and Sons*, New York, 1966.
24. Dufour, L.: Influencia de las reproductoras sobre las reacciones vacunales de la progenie. *Avic. Prof.* 10:44-46 (1992).
25. Etcharren, M.L.: Evaluación de la transferencia de inmunidad materna para la infección de la bolsa de Fabricio y Enfermedad de Newcastle. XIX Convención Nacional ANECA, Pto. Vallarta, Jalisco, 1994, 83-87 pag., ANECA, México (1994).
26. Enciclopedia de México, 3 ed. *Impresora y Ed. Mexicana S.A.*, México, D.F., 1978.
27. Fadly, A.M. and Nazerian, K.: Pathogenesis of infectious bursal disease in chickens infected with virus at various ages. *Avian Dis.*, 27:714-723 (1983).
28. Fahey, K.J., Erny, K. and Croosks, K.: A conformational immunogen on VP-2 of infectious bursal disease virus that induces virus-neutralizing antibodies that passively protect chickens. *J. Gen Virol.*, 70:1473-1481 (1989).
29. Finlay, B.B. and Falkow, S.: Salmonella as an intracellular parasite. *Mol. Microbiol.*, 3:1833-1841 (1989).
30. Finlay, B., Hefferon, F. and Falkow, S.: Epithelial cell surfaces induces *Salmonella* proteins required for bacterial adherence and invasion. *Science*, 341:940-943 (1989).
31. Franchini, A., Canti, M., Manfreda, G. and Bertuzzi, S.: Vitamin E as adyuvantin emulsified vaccine for chickens. *Poul. Sci.*, 70:1709-1715 (1991).
32. Francis, C.L., Starnbach, M.N. and Falkow, S.: Morphological and cytoskeletal changes in epithelial cells occur immediately upon interaction with *Salmonella typhimurium* under low-oxygen conditions. *Mol. Microbiol.*, 6: 3077-3087 (1992).
33. Gast, R. and Beard, C.W.: Serological detection of experimental *Salmonella enteritidis* infections in laying hens. *Avian Dis.*, 34: 721-728 (1990).

34. Getty, R.: Anatomía de los animales domésticos. 5 ed. Ed. *Salvat editores, S.A.*, México, 1990.
35. Gonzalez, C.M.: Causas de inmunodepresión. III Jornada Médico Avícola, México, D.F., 1992, 86-88 pag., *Fac. Med. Vet. y Zoot.*, UNAM, México (1992).
36. Gordon, R.F. y Jordan, F.T.W.: Enfermedades de las aves. 2 ed., Ed. *El manual moderno*, México, 1985.
37. Gorham, S.L., Kadavil, K., Lambert, H. and Abel, J.: Persistence of *Salmonella enteritidis* in young chickens. *Avian Pathol.*, 20:433-437 (1991).
38. Goth, M.A.: Farmacología Médica. 8 ed., Ed *Acribia*, España, 1979.
39. Gross, W.B.: Effect of ascorbic acid on antibody response of stressed and unstressed chickens. *Avian Dis.*, 32:483-485 (1988).
40. Gross, W.B., Jones, D. and Cherry, J.: Effect of ascorbic acid on disease caused by *Escherichia coli* challenge infection. *Avian Dis.*, 32:407-409 (1988).
41. Guerrero, R.C., Valladares, J.C. y Quintana, L.J.A.: Evaluación del daño bursal mediante el estudio histopatológico en pollos de engorda vacunados contra la infección de la bolsa de Fabricio. XVIII Convención Nacional ANECA, Cancún, Q. Roo., 1993, 54-58 pag., *ANECA*, México (1993).
42. Gujarati, D.: Use of dummy variables in testing for equality between sets of coefficients in linear regressions: A generalization. *The American Statistician*, 24:18-21 (1970).
43. Gulig, P.A. and Curtiss III, R.: Plasmid-Associated virulence of *Salmonella typhimurium*. *Infect. Immun.*, 55: 2891-2901 (1987).
44. Heneidi, Z.A.: Reglamentación sanitaria para el control de la salmonelosis aviar en México. Curso de Actualización sobre *Salmonella enteritidis* y *Campylobacter* en las aves domésticas, México, D.F., 1991, 20-25 pag., *ANECA*, México (1991).

45. Hofstad, M.S.: Avian Salmonellosis. In: Diseases of Poultry 8 th ed. Edited by: *American Association of Avian Pathologists*, 65-72 . Iowa State University Press, USA, 1989.
46. Información técnica veterinaria. Laboratorios *Bayer*, 1990.
47. Información técnica veterinaria. Laboratorios *Solvay Animal Health, Inc.* 1994.
48. Karaka, K., Sharma, M. and Nordgren, R.: Nitric oxide production by chicken macrophages activated by acemannan, a complex carbohydrate extracted from *Aloe vera*. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, submitted (1994).
49. Kuney, D.R., Bickford, A.A. and Bell, D.D.: Significance of bursal size survey. *Proc. 29 th. Western Poultry Dis., Acapulco, Gro., 1980*, 43-46 pag., *Western Poultry Dis.*, México (1980).
50. Lee, G.M., Jackson, D.F. and Cooper, G.N.: Infection and immune responses in chickens exposed to *Salmonella typhimurium*. *Avian Dis.*, 27: 577-583 (1983).
51. Lee, Y.C.: Mannose-binding proteins of animal origin. *Ad. Exp. Med. Biol.*, 228: 103-121 (1988).
52. Lorier Le, A.: Resistencia, inmunidad e inmunosupresión en aves. *Avirama*, 1:22-31 (1992).
53. Lucio, B. and Hitcher, S.: Immunosuppression and active response induced by Infectious bursal disease virus in chickens with passive antibodies. *Avian Dis.*, 24:189-196 (1980).
54. Lucio, D.E.: Infección de la bolsa de Fabricio. II Jornada Médico Avícola, México, D.F., 1991, 108-117 pag., *Fac. Med. Vet. y Zoot.*, UNAM, México (1991).
55. Lucio, M.B.: Fallas de vacunación contra la Infección de la bolsa de Fabricio. XIX Convención Nacional ANECA, Pto. Vallarta, Jalisco, 1994, 138-149 pag., *ANECA*, México (1994).

56. Lukert, P.D. and Hitcher, S.B.: Infectious bursal disease. In: Diseases of poultry. 9th ed. Edited by: Hofstad, M.S., Barnes, B.W., Calnek, W.M., Yoder, H.W., 560-576. *Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA.*, 1991.
57. Marquez, M.A.: Infección de la bolsa de Fabricio. III Jornada Médico Avícola, México, D.F., 1992, 135-137 pag., *Fac. Med. Vet. y Zoot., UNAM, México* (1992).
58. Mazariegos, L.A., Lukert, P.D. and Brown, J.: Pathogenicity and immunosuppressive properties of infectious bursal disease "intermediate" strains. *Avian Dis.*, 34:203-208 (1990).
59. Mc Lelland, J.: Anatomía de las aves. Ed. *Mc Graw Hill-Interamericana, España*, 1992.
60. Medina, J.S.: La Infección de la bolsa de Fabricio. *Internews*, 1:14-18 (1991).
61. Medina, J.S.: Infección de la bolsa de Fabricio. *Sint. Avic.*, 28:22-27 (1991).
62. Monte, N.F.: El dilema de la *Salmonella enteritidis*. *Avic. Prof.*, 6: 132-134(1989).
63. Mosqueda, A. y Lucio, B.: Enfermedades comunes de las aves domésticas. *Fac. de Med. Vet. y Zoot. UNAM.*, México, 1985.
64. Nagaraja, K.V., Pomeroy, B.S. and Williams, J.E.: Paratyphoid Infections. In: Diseases of poultry. 9th ed. Edited by: Hofstad, M.S., Barnes, B.W., Calnek, W.M., Yoder, H.W., 99-129, *Iowa State University Press, Iowa, USA.*, 1991.
65. Naqui, S.A., Marquez, B. and Sahin, N.: Maternal antibody and its effect on infectious bursal disease immunization. *Avian Dis.*, 27: 623-631 (1982).
66. North, M.O. y Bell, D.D.: Manual de producción avícola. Ed. *El Manual Moderno*. México, 1993.
67. Osebold, J.W.: Mechanisms of activation by immunologic adjuvants. *JAVMA*, 181: 983-987 (1982).
68. Padrón, N.M.: Infecciones paratifoideas en el pollo de engorda. *Avic. Prof.*, 6: 123-130 (1989).

69. Padrón, N.M.: Control y prevención de la tifoidea aviar en aves reproductoras pesadas. II Jornada Médico Avícola, México, D.F., 1991, 128-149 pag., *Fac. Med. Vet. y Zoot. UNAM.*, México (1991).
70. Padrón, N.M.: Diagnóstico de *Salmonella enteritidis*. Curso de actualización sobre criterio diagnóstico en la practica avícola, México, D.F., 1992, 37-39 pag., *ANECA*, México (1992).
71. Quintana, L.J.A.: Avitecnia. 2 de. Ed. *Trillas*, México, 1991.
72. Ramírez, M. M.: El HP-1 un agente hemoaglutinante de patos, en la inmunización contra el síndrome de la baja de postura 1976. Tesis de doctorado. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.*, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 1984.
73. Roitt, I.: Immunology. 9 th ed. Ed. *Mosby*, Hon Kong, 1993.
74. Rountree, J.L.: Technique for quantification of thymus, bursa and bone marrow and other changes. *Consultants Avian Health and Management*. Litchfield, ME, U.S.A.
75. Saif, Y.: Immunosuppression induced by infectious bursal disease virus. *Vet. Immunol and Immunopathol.*, 30:45-50 (1991).
76. Salyers, A.A. and Whitt, D.D.: Salmonella Infections. In: Bacterial Pathogenesis a molecular approach. 10 ed., 229-243, Ed. *ASM Press*, Washington, D.C., USA. 1994.
77. Sánchez, B.C.A.: Evaluación de dos cepas vacunales del virus de la Infección de bolsa de Fabricio en pollos de engordá comerciales. Tesis de Maestría. *Fac. Med. Vet. y Zoot.*, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1994.
78. Sapre, V.A. and Mehta, M.L.: Indirect hemagglutination test for the diagnosis of salmonellosis in poultry. *Indian Vet. J.*, 44:647-652 (1967).
79. Shane, S.M.: Protección contra la enfermedad infecciosa de la bolsa de Fabricio. *Tec. Avipec.*, 75:11-14 (1994).

80. Sharma, J.M., Karaka, K., Pertile, T. y Suresh, M.: Avances recientes en la inmunología y la inmunomodulación. XIX Convención Nacional ANECA, Pto Vallarta, Jalisco, 1994, 297-302 pag., *ANECA*, México (1994).
81. Skeeles, J.K., Lukert, P.D. and Davis, R.B.: Vaccination of maternally immune chickens with an attenuated infectious bursal disease vaccine. *Avian Dis.*, 23:456-465 (1979).
82. Snoeyenbos, G.H., Carlson, V.L., McKie, B.A. and Smyser, C.F.: An epidemiological study of salmonellosis of chickens. *Avian Dis.*, 13:668-670 (1969).
83. Sung, S.S.J., Nelson, R.S. and Siverstein, S.C.: Mice peritoneal macrophages plated on mannan and horseradish peroxidasecated substrate lose the ability to phagocytose by their Fc receptors. *J. Immunol.*, 134:3712-3717 (1985).
84. Trigo, T.F.J. y Mateos, P.A.: Patología general veterinaria. *Fac. Med. Vet. y Zoot. UNAM.*, México, D.F., 1987.
85. Tizard, R.: Vaccinating and immunizing poultry: how things go wrong. *Poul. Dig.*, 18:66-68 (1985).
86. Tizard, I.: Inmunología Veterinaria. 3 th ed. Ed. *Interamericana*, México, 1987.
87. Tizard, I.R., Carpenter, R.H., McAnalley, B.H. and Kemp, M.C.: The biological activities of mannans and related complex carbohydrates. *Mol. Biother.*, 1:260-296 (1989).
88. Turnbull, D.C.B. and Richmond, J.E.: A model of *Salmonella enteritidis*: the behaviour of *Salmonella enteritidis* in chick intestine studied by light and electron microscopy. *Br. J. Exp. Path.*, 59:64-75 (1978).
89. Urquiza, B. O.: Paratifoidea aviar. III Jornada Médico Avícola, México, D.F., 1992, 235-239 pag., *Fac. Med. Vet. y Zoot. UNAM*, México (1992).

90. Virgil, S.D. y Whifill, C.: Avances tecnológicos de la vacuna para la prevención de la Infección de la bolsa de Fabricio, una nueva generación de vacunas. XIX Convención Nacional ANECA, Pto. Vallarta, Jalisco, 1994, 370-374 pag., ANECA, México (1994).
91. Winterfield, R.D. and Thacher, H.L.: Immune response and pathogenicity of different strains of infectious bursal disease virus applied as vaccine. *Avian Dis.*, 22:721-731 (1978).
92. Womble, D. and Helderman, J.H.: Enhancement of alloresponsiveness of human lymphocytes by acemannan (carrisyn). *Int. J. Immunopharmacol.*, 10:967-974 (1988).
93. Zar, J.: Biostatistical analysis. 2 nd ed. Ed. *Prentice Hall Inc*, Englood Cliffs, N.J., 1984.
94. Zavaleta, O.E.: Desarrollo de la prueba de inmunoperoxidasa indirecta en tejidos fijados en formalina para la detección del virus de la infección de la bolsa de Fabricio. Tesis profesional de licenciatura. *Fac. Med. Vet. Y Zoot.* Benemerita Autónoma de Puebla. Puebla, Pue., 1994.

CUADROS Y FIGURAS

Cuadro 1. Porcentaje de nacimientos, fertilidad y mortalidad embrionaria calculado mediante el embriodiagnóstico de huevo obtenido de RIE 40.

VARIABLES	1. <i>Acemannan</i> 0.2ml	2. <i>Acemannan</i> 0.4ml	3. <i>Yatrén</i> <i>caseína</i>	4. Testigo
Huevos Infértiles	5.62 %	4.76 %	5.36 %	3.12 %
Mort. 2-6 días (2 %)*	1.56 %	1.58 %	0.63 %	0.31 %
Mort. 7-10 días (0.5 %)	0 %	0 %	0.31 %	0 %
Mort. 11-17 días (0.5 %)	1.23 %	0.31 %	0.31 %	1.87 %
Mort. 18-21 días (2 %)	0.94 %	0.94 %	0.63 %	0.94 %
Contaminados	0.31 %	0.30 %	0 %	0.31 %
Pollo de Primera	89.68 %	92.06 %	91.79 %	92.18 %
Pollo de Segunda	0.62 %	0 %	0.94 %	1.25 %

Mort. = Mortalidad

()* Porcentajes normales de mortalidad.

RIE 40= Reproductoras inmunestimuladas de 40 semanas de edad.

Cuadro 2. Porcentaje de nacimientos, fertilidad y mortalidad embrionaria calculado mediante el embriodiagnóstico de huevo obtenido de RIE 50.

Variables	1. <i>Acemannan</i> 0.2ml	2. <i>Acemannan</i> 0.4ml	3. <i>Yatrén</i> <i>caseína</i>	4. Testigo
Huevos Infértiles	4.62 %	3.47 %	4.39 %	4.39 %
Mortalidad 2-6 días	3.93 %	3.00 %	3.93 %	4.16 %
Mortalidad 7-10 días	1.38 %	0.92 %	1.15 %	0.69 %
Mortalidad 11-17 días	1.15 %	1.85 %	1.62 %	0.92 %
Mortalidad 18-21 días	1.15 %	2.77 %	2.31 %	2.08 %
Contaminados	0.69 %	0.92 %	0.92 %	0.69 %
Pollo de Primera	86.11 %	85.87 %	83.56 %	85.87 %
Pollo de Segunda	0.92 %	1.15 %	2.08 %	1.15 %

RIE 50 = Reproductoras inmunoestimuladas de 50 semanas de edad.

Cuadro 3. Valor estimado para los parámetros β_0 , β_1 , β_2 y coeficiente de determinación R^2 .

Grupos	Dosis	Modelos Ajustados	C. de D. R^2
<i>Acemannan</i>	0.2 ml	Y = -20.008 + - 0.948 X_i + 11.115 $X_i^{1/2}$ e.e. (0.169) (1.912)	0.910
<i>Acemannan</i>	0.4 ml	Y = - 9.630 + - 0.590 X_i + 7.193 $X_i^{1/2}$ e.e. (0.209) (2.373)	0.815
<i>Yatrén caseína</i>	0.2 ml	Y = -16.981 + - 0.862 X_i + 10.076 $X_i^{1/2}$ e.e. (0.239) (2.702)	0.801
Testigo	-----	Y = -29.510 + - 1.346 X_i + 14.916 $X_i^{1/2}$ e.e. (0.537) (2.789)	0.727

e.e. = Error estándar

C. de D. = Coeficiente de Determinación.

Cuadro 4. Comparaciones de los inmunoestimulantes en estudio a través de 30 sem.. Técnica de variables binarias de Gujarati.

	Testigo	<i>Acemannan</i> 0.2 ml	<i>Acemannan</i> 0.4 ml	<i>Yatrén caseína</i>
β_0	-3.358	-17.489*	-6.785	-14.423*
β_1	-0.380	-0.598*	-0.233	-0.510
β_2	4.763	6.677*	5.623*	2.660*

* Significativa $p < 0.05$ en comparación con el testigo

β_0 = Intercepto u origen de la curva (18 semanas).

β_1 = Pendiente o coeficiente de regresión.

β_2 = Efecto de raíz cuadrada.

Cuadro 5. Promedios de pesos corporales (g) al día de edad y al sacrificio (15° día) de la progenie de gallinas reproductoras inmunoestimuladas de 40 semanas.

Grupos	Inmunoestimulantes	Progenie (n)	Pesos corporales al día de edad (g)	Pesos al sacrificio (g)
1	<i>Acemannan</i> 0.2 ml.	20	44.85 ± 5.48	273.12 a ± 24.26
2	<i>Acemannan</i> 0.4 ml.	20	46.19 ± 3.02	241.26 b ± 40.22
3	<i>Yatrén-caseína</i> 0.2 ml	20	44.74 ± 3.32	259.86 ab ± 33.35
4	Testigo	20	46.77 ± 2.90	254.06 b ± 25.29

a,b. Diferente literal denota diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

Cuadro 6. Promedios de pesos corporales (g) al día de edad y al sacrificio (15^o día) de la progenie de RIE 50.

Grupos	Inmunoestimulantes	Progenie (n)	Pesos corporales al día de edad (g)	Pesos al sacrificio (g)
1	<i>Acemannan</i> 0.2 ml.	20	42.91 ± 2.15	294.39 a ± 28.70
2	<i>Acemannan</i> 0.4 ml.	20	43.42 ± 2.68	292.37 ab ± 34.60
3	<i>Yatrén-caseína</i> 0.2 ml	20	43.45 ± 2.69	289.4 ab ± 14.75
4	Testigo	20	41.89 ± 3.78	276.4 b ± 19.42

a,b. Diferente literal denota diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

RIE 50= Reproductoras inmunoestimuladas de 50 semanas de edad.

Cuadro 7. Promedios de títulos de VSN contra IBF de los sueros de la progenie de RIE 40 desafiada al cuarto día contra el virus de la IBF y sacrificada al 15 día de edad.

Grupos	Inmunoestimulantes	Progenie (n)	VSN vs IBF al 1 día de edad	VSN pos- desafío
1	<i>Acemannan</i> 0.2 ml.	20	1: 5,875 ab	1: 1,045
2	<i>Acemannan</i> 0.4 ml.	20	1: 8,318 a	1: 888
3	<i>Yatrén-caseína</i> 0.2 ml	20	1: 14,455 a	1: 830
4	Testigo	20	1: 4,160 b	1: 1,331

a,b. Diferente literal denota diferencia estadística significativa ($p < 0.05$)

RIE 40= Reproductoras inmunoestimuladas de 40 semanas de edad

Cuadro 8. Promedios de títulos de VSN contra IBF de los sueros de la progenie de RIE 50 desafiada al cuarto día contra el virus de la IBF y sacrificada al 15 día de edad.

Grupos	Inmunoestimulantes	Progenie (n)	VSN vs IBF al 1 día de edad.	VSN pos- desafío.
1	<i>Acemannan</i> 0.2 ml.	20	1: 10,965	1: 141
2	<i>Acemannan</i> 0.4 ml.	20	1: 12,590	1: 99
3	<i>Yatrén-caseína</i> 0.2 ml	20	1: 10,233	1: 172
4	Testigo	20	1: 10,965	1: 123

VSN= virus suero neutralización

RIE 50= Reproductoras inmunoestimuladas de 50 semanas de edad

Cuadro 9. Promedios de índices bursales de la progenie de RIE 40 y 50 al sacrificio (15º día) que fueron desafiadas al 4º día contra el virus de la IBF.

Grupos	Inmunoestimulantes	Progenie (n)	Índice bursal (RIE 40)	Índice bursal (RIE 50)
1	<i>Acemannan</i> 0.2 ml.	20	0.203 ± 0.06	0.140 ± 0.05
2	<i>Acemannan</i> 0.4 ml.	20	0.192 ± 0.05	0.143 ± 0.06
3	<i>Yatrén-caseína</i> 0.2 ml	20	0.211 ± 0.06	0.144 ± 0.06
4	Testigo	20	0.170 ± 0.07	0.163 ± 0.08

RIE 50 y 40= Reproductoras inmunoestimuladas de 40 y 50 semanas de edad.

Cuadro 10. Promedios de índices metatarso bursal de la progenie de RIE 40 y 50 al sacrificio (15º día) que fueron desafiadas al 4º día contra el virus de la IBF.

Grupos	Inmunoestimulantes	Progenie (n)	IMB (RIE 40)	IMB (RIE 50)
1	<i>Acemannan</i> 0.2 ml.	20	19.68 ± 2.05	16.59 ± 2.74
2	<i>Acemannan</i> 0.4 ml.	20	19.25 ± 2.80	16.55 ± 3.84
3	<i>Yatrén-caseína</i> 0.2 ml	20	19.85 ± 2.60	16.51 ± 3.43
4	Testigo	20	17.86 ± 3.59	16.92 ± 3.69

IMB = índice metatarso bursal.

RIE 50 y 40 = Reproductoras inmunoestimuladas de 40 y 50 semanas de edad.

Cuadro 11. Promedios de lesiones bursales de la progenie de RIE 40 y 50 al sacrificio (15º día) que fueron desafiadas al 4º día contra el virus de la IBF.

Grupos	Inmunoestimulantes	X Lesión Bursal (RIE 40)	X Lesión Bursal (RIE 50)
1	<i>Acemannan</i> 0.2 ml.	2.218 a	2.799
2	<i>Acemannan</i> 0.4 ml.	2.904 b	2.652
3	<i>Yatrén-caseína</i> 0.2 ml	2.386 ab	2.532
4	Testigo	2.739 ab	2.709

a,b. Diferente literal denota diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

RIE 40 y 50 = Reproductoras inmunoestimuladas de 40 y 50 semanas de edad.

Cuadro 12. Promedios de pesos corporales (g) al día de edad y al sacrificio (6° día) de la progenie de RIE 40 desafiada contra *Salmonella enteritidis* al cuarto día de edad.

Grupos	Inmunoestimulantes	Progenie (n)	Promedios de pesos iniciales (g)	Pesos al sacrificio (g)
1	<i>Acemannan</i> 0.2 ml.	20	44.85 ± 5.48	105.64 a ± 22.55
2	<i>Acemannan</i> 0.4 ml.	20	46.19 ± 3.02	97.16 b ± 17.40
3	<i>Yatrén-caseína</i> 0.2 ml	20	44.74 ± 3.32	89.50 b ± 13.39
4	Testigo	20	46.77 ± 2.90	97.70 b ± 11.53

a,b. Diferente literal indica diferencia significativa ($p < 0.05$), evaluado mediante la prueba de Duncan.

RIE 40= Reproductoras inmunoestimuladas de 40 semanas de edad.

Cuadro 13. Promedios de pesos corporales (g) al día de edad y al sacrificio (6° día) de la progenie de RIE 50 desafiada contra *Salmonella enteritidis* al cuarto día de edad.

Grupos	Inmunoestimulantes	Progenie (n)	Promedio de peso inicial (g)	Peso al sacrificio (g)
1	<i>Acemannan</i> 0.2 ml.	20	42.91 ± 2.15	177.21 ± 17.21
2	<i>Acemannan</i> 0.4 ml.	20	43.42 ± 2.68	180.16 ± 13.44
3	<i>Yatrén-caseína</i> 0.2 ml	20	43.45 ± 2.69	185.20 ± 14.75
4	Testigo	20	41.89 ± 3.78	177.43 ± 17.43

RIE 50= Reproductoras inmunoestimuladas de 50 semanas de edad.

Cuadro 14. Aislamientos positivos a partir de cultivos primarios de hígado, bazo y tonsilas cecales de la progenie de RIE 40 desafiada contra *Salmonella enteritidis*.

Grupos	Inmunoestimulantes	Progenie (n)	Hígado y bazo	Tonsilas cecales
1	<i>Acemannan</i> 0.2 ml.	20	0/20 (0 %)	0/20 (0 %)
2	<i>Acemannan</i> 0.4 ml.	20	0/20 (0 %)	0/20 (0 %)
3	<i>Yatrén-caseína</i> 0.2 ml	20	0/20 (0 %)	0/20 (0 %)
4	Testigo	20	2/20 (10 %)	0/20 (0 %)

RIE 40= Reproductoras inmunoestimuladas de 40 semanas de edad.

Cuadro 15. Aislamientos positivos a partir de cultivos primarios de hígado, bazo y tonsilas cecales de la progenie de RIE 50 desafiada contra *Salmonella enteritidis*.

Grupos	Inmunoestimulantes	Progenie (n)	Hígado y bazo	Tonsilas cecales
1	<i>Acemannan</i> 0.2 ml.	22	14/22 (63.6 %) a	12/22 (54.5 %) a
2	<i>Acemannan</i> 0.4 ml.	25	17/25 (68.0 %) a	10/25 (40.0 %) a
3	<i>Yatrén-caseína</i> 0.2 ml	26	24/26 (92.3 %) b	24/26 (92.3 %) b
4	Testigo	22	22/22 (100 %) b	20/22 (90.9 %) b

a,b. Diferente literal indica diferencia significativa ($p < 0.05$), evaluado mediante la prueba de Duncan.

RIE 50= Reproductoras inmunoestimuladas de 50 semanas de edad.

Cuadro 16. Promedios de cambios histológicos observados a las 48 horas en la progenie de RIE 40 desafiada contra *S. enteritidis*.

Grupos	Inmunoestimulantes	A.A.P.	I.H.	I.F.L.M	I.D.L.M.	L.SUB
1	<i>Acemannan</i> 0.2 ml.	1.2	1.4 ab	0.4	1.1 a	1.9 a
2	<i>Acemannan</i> 0.4 ml.	1.4	2.22 a	0.11	1.88 a	1.66 a
3	<i>Yatrén-caseína</i> 0.2 ml	1.4	1.3 b	0.1	1.2 a	2.2 a
4	Testigo	1.2	0.75 b	0.33	0.1 b	0.83 b

A.A.P. = Atrofia y ausencia de pliegues. I.H. = Infiltración de heterófilos.

I.F.L.M. = Infiltración focal de linfocitos en mucosa.

I.D.L.M. = Infiltración difusa de linfocitos en mucosa.

L.SUB. = Infiltración de linfocitos en submucosa.

a, b, c. Diferente literal significa diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

Cuadro 17. Promedios de cambios histológicos observados a las 96 horas en la progenie de RIE 50 desafiada contra *S. enteritidis*.

Grupos	Inmunoestimulantes	A.A.P.	I.H.	I.F.L.M	I.D.L.M	L.SUB
1	<i>Acemannan</i> 0.2 ml.	1.2	0.35 b	0.65	0.30	0.65
2	<i>Acemannan</i> 0.4 ml.	1.1	0.33 b	0.87	0.20	0.91
3	<i>Yatrén-caseína</i> 0.2 ml	0.9	0.34 b	0.52	0.13	1.0
4	Testigo	0.9	0.90 a	0.52	0.57	1.09

A.A.P. = Atrofia y ausencia de pliegues. I.H. = Infiltración de hetérfilos.

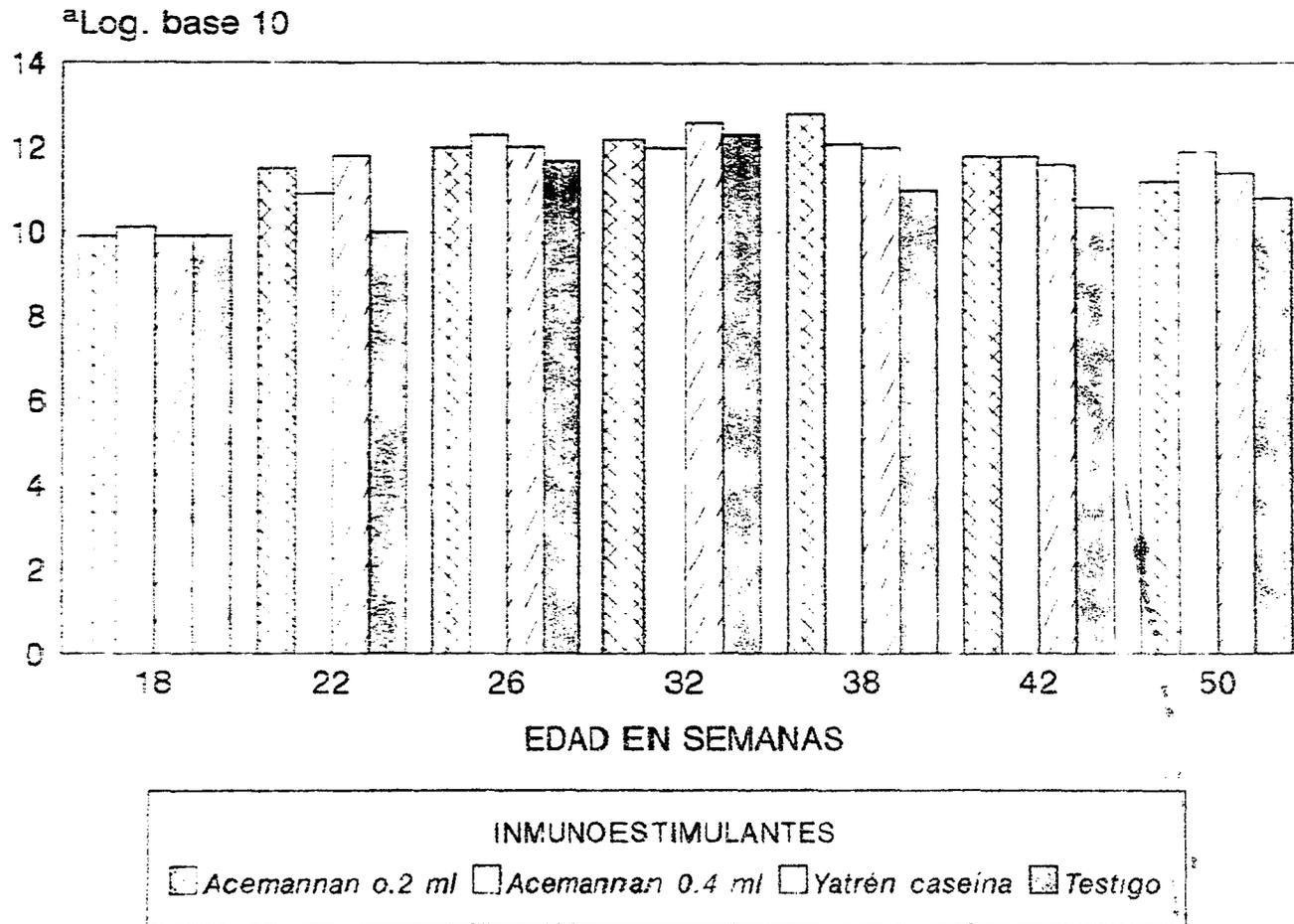
I.F.L.M. = Infiltración focal de linfocitos en mucosa.

I.D.L.M. = Infiltración difusa de linfocitos en mucosa.

L.SUB = Infiltración de linfocitos en submucosa.

a, b, c. Diferente literal significa diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

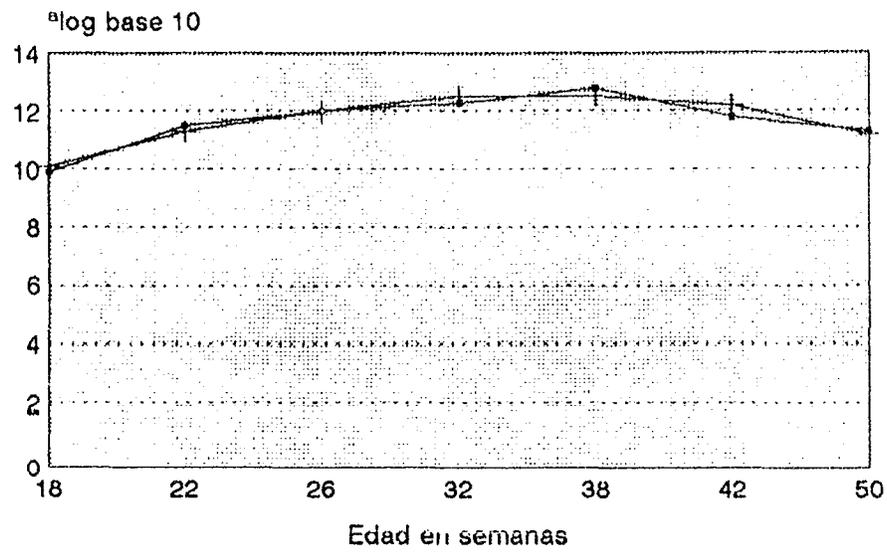
Gráfica 1. Títulos de anticuerpos en VSN contra la IBF en gallinas reproductoras vacunadas a las 18 sem. de edad con inmunostimulantes.



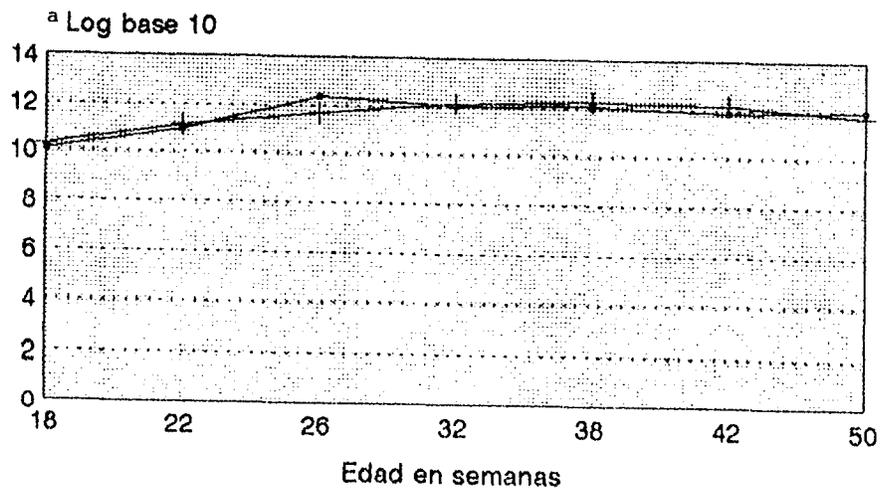
ESTO ES UN DOCUMENTO CONFIDENCIAL

Gráfica 2. Títulos de VSN en gallinas vacunadas contra la IBF con adyuvantes a las 18 semanas de edad en comparación con su respectivo modelo de regresión raíz cuadrada.

ACEMANNAN 0.2 ml



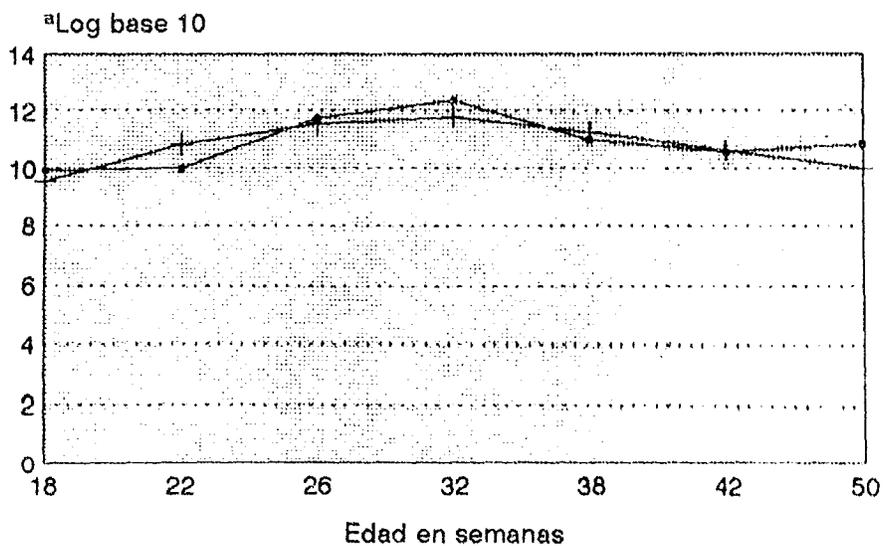
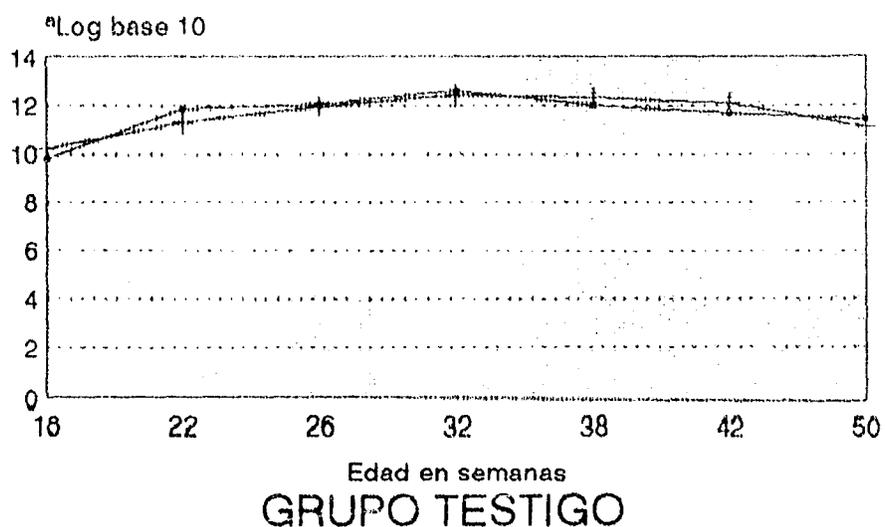
ACEMANNAN 0.4 ml



• Valores observados + Modelo raíz cuadrada

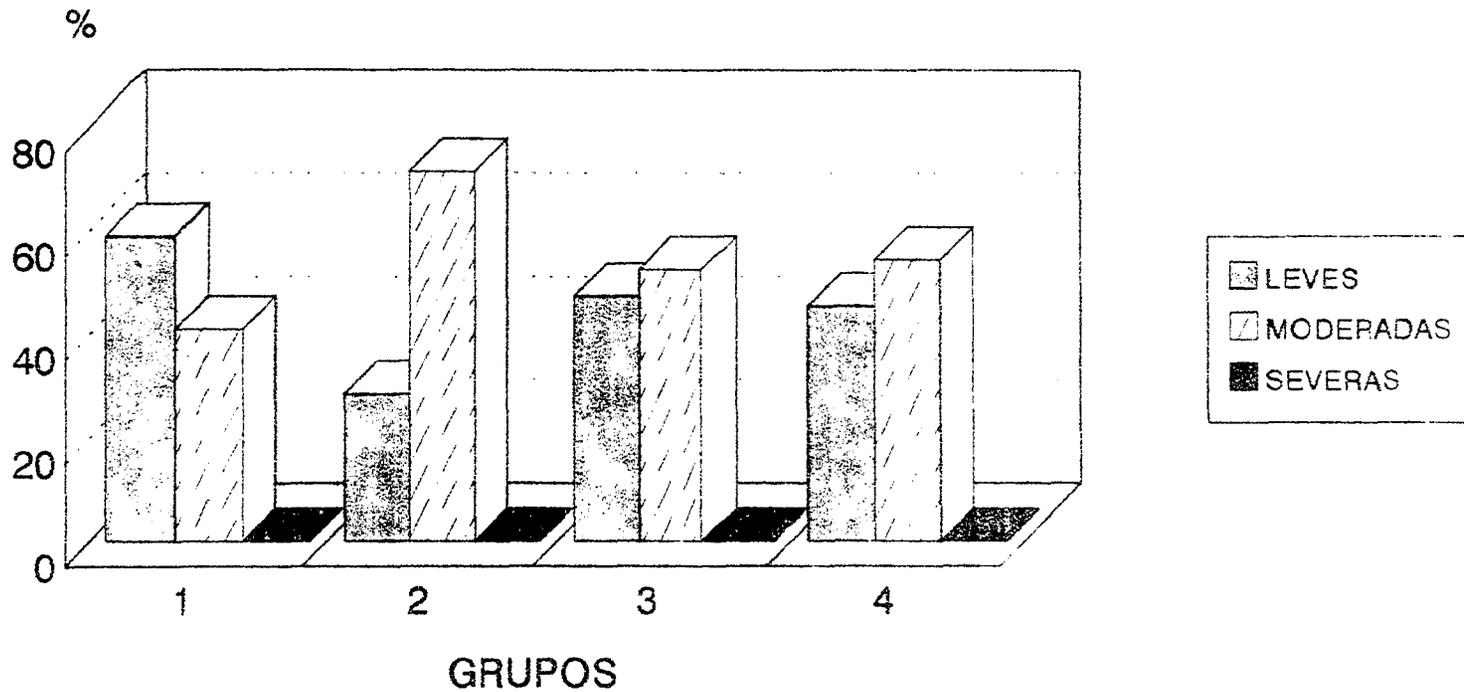
Gráfica 3. Títulos de VSN en gallinas vacunadas contra la IBF con adyuvantes a las 18 semanas de edad en comparación con su respectivo modelo de regresión raíz cuadrada. (CONTINUACIÓN)

YATRÉN CASEÍNA



-•- Valores observados + Modelo raíz cuadrada

Gráfica 4. Porcentaje de lesiones bursales de la progenie de RIE 40 desafiada contra el virus de la IBF.



1. *Acemannan* 0.2 ml

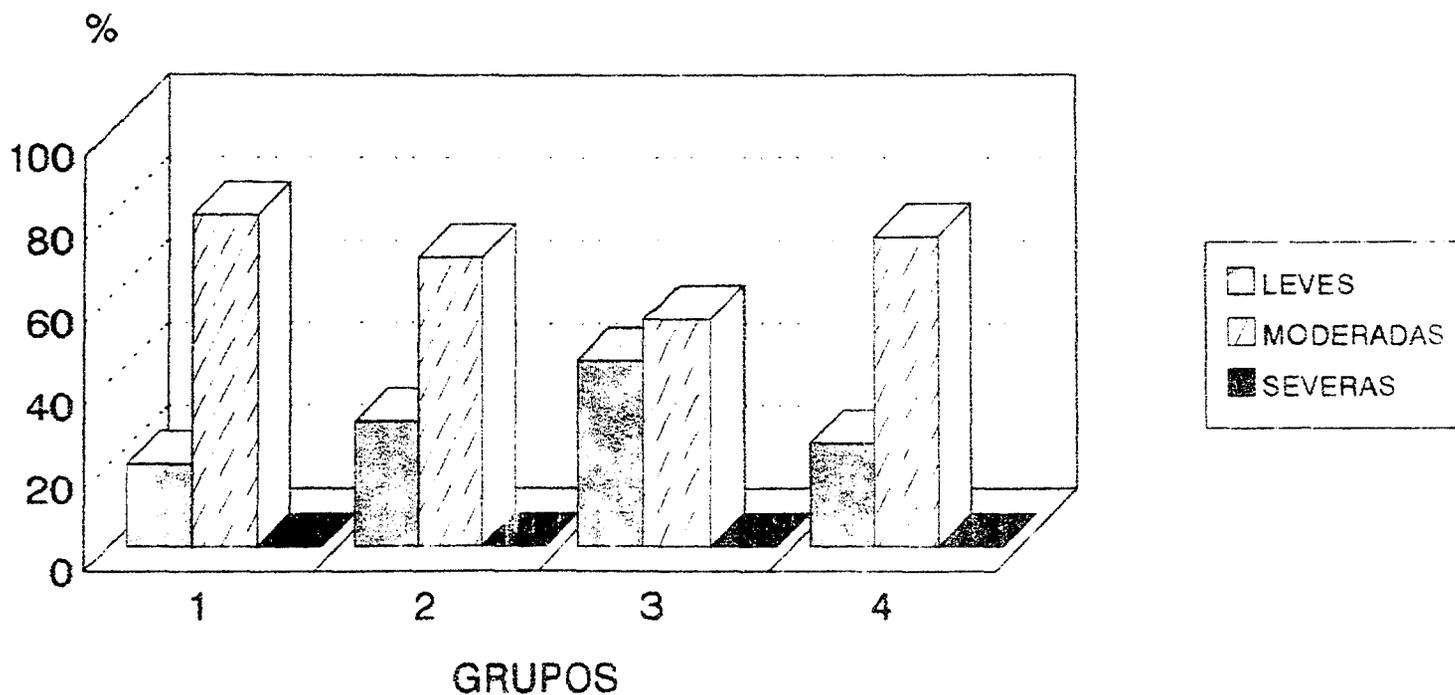
3. *Yatrén caseína*

2. *Acemannan* 0.4 ml

4. Testigo

RIE 40= Gallinas reproductoras inmunoestimuladas de 40 semanas de edad.

Gráfica 5. Porcentaje de lesiones bursales de la progenie de RIE 50 desafiadas contra el virus de la IBF.



1. Acemannan 0.2 ml

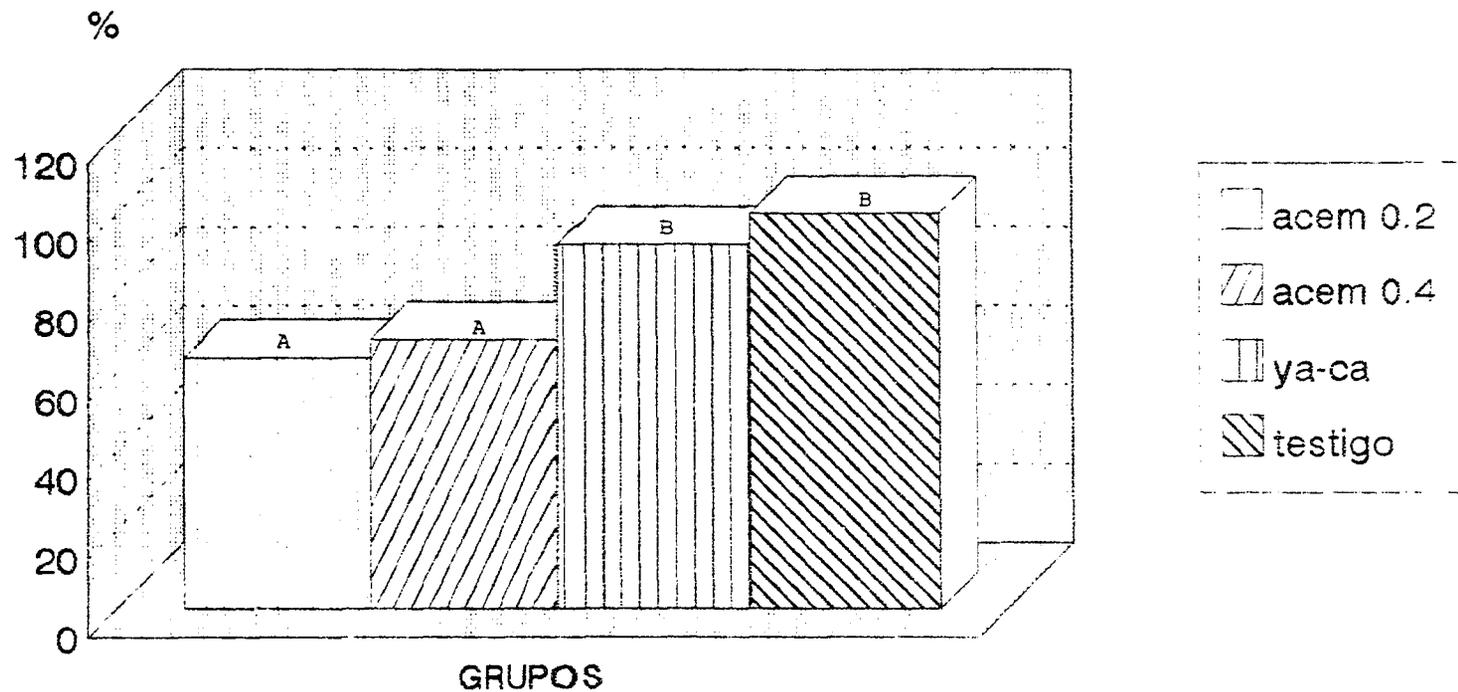
2. Acemannan 0.4 ml

3. Yatrén caseína

4. Testigo

RIE 50= Gallinas reproductoras inmunoestimuladas de 50 semanas de edad.

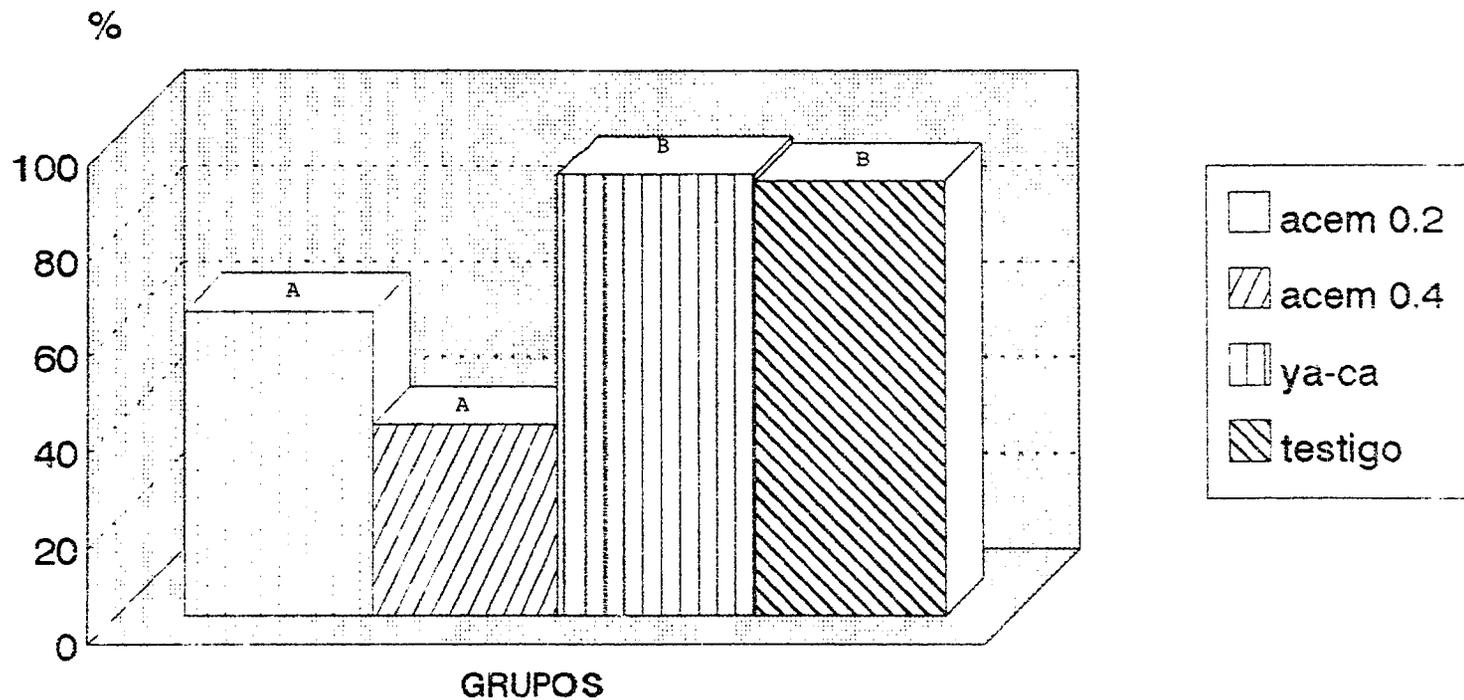
Gráfica 6. Aislamientos positivos a *S. enteritidis* a partir de cultivos primarios de hígado-bazo de la progenie de RIE 50.



RIE 50= Gallinas reproductoras inmunoestimuladas de 50 semanas de edad.

a,b. Diferente literal denota diferencia estadística significativa ($P < 0.05$)

Gráfica 7. Aislamientos positivos a *S. enteritidis* a partir de cultivos primarios de tonsilas cecales de la progenie de RIE 50.



RIE 50 = Gallinas reproductoras inmunoestimuladas de 50 semanas de edad.
a,b. Diferente literal denota diferencia estadística significativa ($P < 0.05$)

Figura 1. Infiltración de mononúcleares observado en los ciegos de la progenie de gallinas reproductoras de 40 semanas vacunadas con *acemannan* la cual fue desafiada al cuarto día contra *S. enteritidis*.

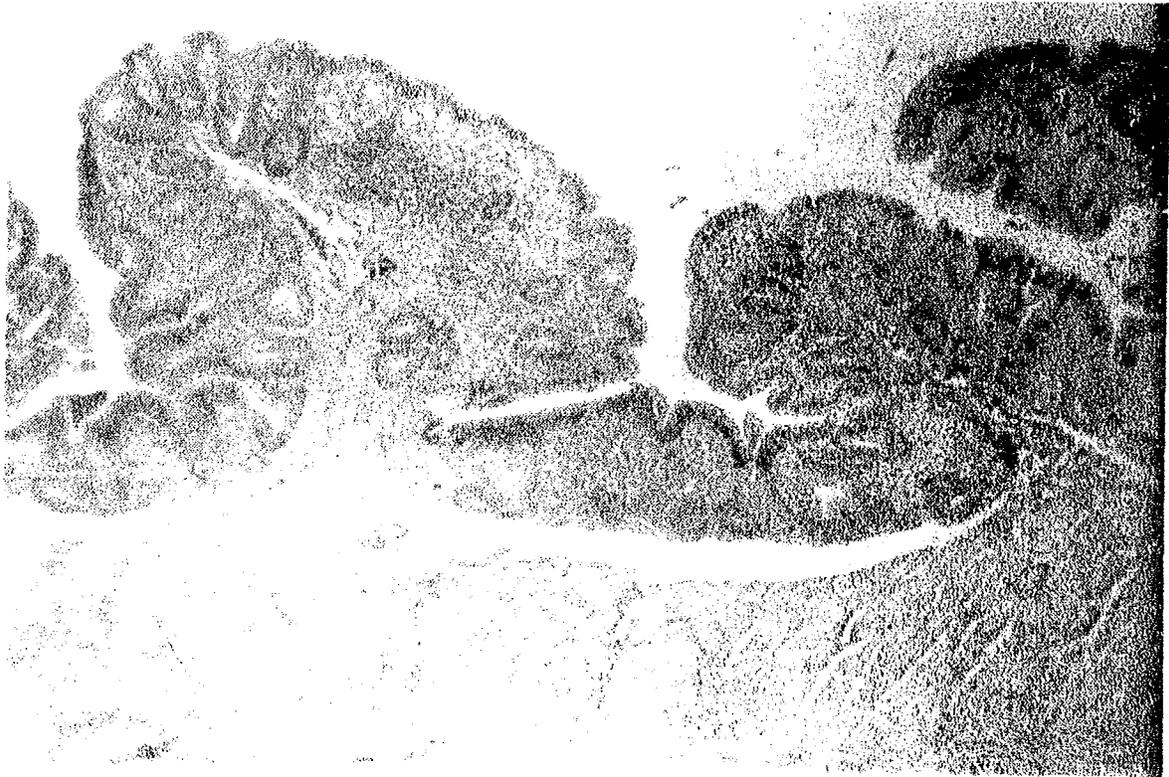


Figura 2. Infiltración de mononúcleares observado en los ciegos de la progenie de gallinas reproductoras de 40 semanas vacunadas sin adyuvante la cual fue desafiada al cuarto día contra *S. enteritidis*.

