

CARACTERIZACION DEL DESARROLLO DE LA BOLSA DE FABRICIO EN POLLOS DE ENGORDE ¹

(Santa Cruz de la Sierra Provincia Andrés Ibañez Dpto. Santa Cruz)

Suárez, Z.N.V.²; Aguilera, Q.I.³; Ardaya, C⁴; Gianella, D.H.⁵; Rodríguez, J.⁶

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. U.A.G.R.M.

I. RESUMEN

Se realizó un estudio de investigación con el objetivo de caracterizar el desarrollo de la Bolsa de Fabricio en pollos de engorde, en granjas ubicadas en el área avícola de la provincia Andrés Ibañez del departamento de Santa Cruz, Bolivia. El área de muestreo se dividió en cuatro cuadrantes, tomando 5 granjas al azar de cada uno, se eligió un lote y se escogieron 7 pollos hembras en cada edad. En el Laboratorio de Patología Aviar de la Asociación de Avicultores, se procedió al sacrificio de las aves y siguiendo técnicas apropiadas de necropsia se tomaron y fijaron en formol bufferado al 10% muestras de la Bolsa de Fabricio, se analizó el peso y tamaño del Bazo de los pollos, en cada edad de muestreo: 1,7,14,21,28,35 y 42 días; se utilizó un grupo control para comparar el desarrollo de la Bolsa de Fabricio, los cuales no recibieron ninguna vacuna.

Siguiendo técnicas histológicas rutinarias (coloración Hematoxilina – Eosina) se procesaron 932 muestras en el Laboratorio de Histopatología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.A.G.R.M. Las Bolsas de Fabricio coloreadas fueron observadas en un microscopio óptico para evaluar las estructuras histológicas. Se encontró que el 82,05% de las muestras se encontraron entre los grados “0” y “1” correspondiendo éstas a lesiones leves, sin atrofia del órgano; un 16,96% de las bolsas observadas se ubicaron entre los grados “2” y “3” correspondiendo a pollos de 35 y 42 días de edad, mostrando una verdadera atrofia fisiológica, que no se atribuyó a una reacción vacunal o enfrentamiento de campo con el virus de la Enfermedad de la Bolsa de Fabricio.

¹Tesis de grado presentada por Suárez, Z.N.V., para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista

²Av. Alemana calle 9 oeste N° 3600. Tel. 3420291, Santa Cruz – Bolivia

³Profesor Titular de Patología Aviar, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. U.A.G.R.M., Santa Cruz – Bolivia.

⁴Ardaya, C. Jefe Laboratorio de la Asociación Departamental de Avicultores, Santa Cruz – Bolivia.

⁵Gianella, D.H., Profesor Emérito de Patología Veterinaria Especial (jubilado) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.A.G.R.M., Santa Cruz – Bolivia.

⁶Ortiz, R.J. Jefe de Departamento Técnico de la Asociación Departamental de Avicultores, Santa Cruz – Bolivia.

II. INTRODUCCION

La producción avícola actualmente se ha desarrollado en forma integral, intensificándose la crianza del pollo parrillero, lo cual ha traído numerosos factores que desencadenan estados inmunosupresivos, aumentando la susceptibilidad de las aves a las enfermedades.

La crianza de pollos parrilleros se considera uno de los más importantes rubros en el país, por que genera muchas fuentes de trabajo, siendo un importante ingreso económico para muchas familias conformadas éstas en Empresas; por lo tanto se ha convertido en un serio desafío, el obtener un kilogramo de carne de pollo, a un bajo costo, en el menor tiempo posible y con una conversión alimenticia eficiente.

En el afán de obtener buenos resultados en la crianza de pollos parrilleros, se han desarrollado una serie de controles tanto en genética, sanidad, nutrición y manejo.

El control de enfermedades infecciosas depende de la Inmunidad de la parvada. Una respuesta inmune reducida induce a un incremento en pérdidas por enfermedades pudiendo dañar severamente la economía de la empresa (Giambrone J.J, 1996)

Una inmunosupresion puede ser causada por agentes infecciosos o no infecciosos. Los agentes inmunosupresores pueden afectar a todos los tipos de inmunidades, incrementando así la susceptibilidad a agentes patógenos en forma inespecífica.

El sistema inmunológico es dependiente del tejido Linfoide. Los órganos linfoides de los pollos incluyen: la Bolsa de Fabricio, Timo, Bazo, tonsilas cecales, placas de Peyer y glándula de Harder .La destrucción de la bolsa de Fabricio a una edad temprana por el virus de Gumboro o de Marek previene la programación de las células – B, de este modo, el ave no podrá responder a las enfermedades o a las vacunas para producir anticuerpos.(Butcher G.D. y Miles R.D, 1994)

En esta investigación se determinó el desarrollo de la Bolsa de Fabricio, órgano muy importante del sistema inmunitario de las aves.

Se establecieron los siguientes objetivos: Caracterizar el desarrollo de la Bolsa de Fabricio, medir el tamaño de la Bolsa de Fabricio mediante el uso del Bursímetro, en cada edad establecida; obtener la Relación del Peso Corporal/ peso de la Bolsa y peso corporal/ peso del Bazo y evaluar las estructuras histopatológicas de la Bolsa de Fabricio de los pollos en estudio.

III. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

3.1.- SISTEMA INMUNOLÓGICO DE LAS AVES.

En las aves domésticas la competencia inmunológica es especialmente importante para el desempeño productivo de la parvada, si los pollos están inmunodeprimidos, la efectividad de las vacunas y de los medicamentos utilizados rutinariamente se reduce y se incrementa la susceptibilidad a gentes oportunistas.(Valladares J.C.,1992).

Los embriones de pollo se desarrollan nutriéndose del saco vitelino o yema y de la clara, posteriormente el pollo BB continúa la absorción de la yema; pero a la vez se produce también la absorción de anticuerpos (Ac) producidos por la madre y cedidos al óvulo para la protección de los pollitos. No obstante, estos elementos protectores (Ac) tienen un tiempo de permanencia en el pollo que es aproximadamente de 3 semanas, otorgando protección mientras que el sistema inmunocompetente (S.I.C) se desarrolle más y esté en condiciones de producir sus propias defensas.Vacunamos entonces para estimular el S.I.C. a producir anticuerpos y proteger o para disminuir las pérdidas por enfermedad o muerte. (Comotto G. E, 1986).

El sistema inmune es dependiente del tejido linfoide y está dividido en dos secciones: primario y secundario. Los órganos linfoides primarios incluyen la bolsa de Fabricio y el timo. Los órganos linfoides secundarios incluyen el bazo, las tonsilas cecales, las placas de Peyer y la glándula de Harder. El tejido linfoide central es invadido por células primordiales provenientes de la médula ósea o del saco vitelino que han transcurrido en un proceso de diferenciación y migran a formar en la bolsa de Fabricio, linfocitos B y en el timo, linfocitos T.

Los linfocitos T cuando son expuestos a algún antígeno proceden a dividirse para formar células plasmáticas que secretan anticuerpos y también células de memoria. Los anticuerpos neutralizan al antígeno, mientras que las células de memoria retienen el código de reconocimiento para el antígeno. En contactos subsecuentes con el mismo antígeno, las células de memoria se dividen para formar más células plasmáticas que producen anticuerpos durante la respuesta anamnésica. Los linfocitos T no producen anticuerpos, ellos están encargados del CMI(linfocitos T –efectores), de la destrucción de células infectadas(linfocitos T . citotóxicos), y de promover la producción de anticuerpos por los linfocitos B (linfocitos t – ayudadores). Células de memoria también son producidas por los linfocitos T (Giambrone J.J, 1996).

3.2.- DESARROLLO DEL SISTEMA INMUNE.

Mientras el pollito crece, los tejidos linfoides periféricos son poblados por linfocitos B y T provenientes de tejidos centrales. Cuando el ave alcanza la madurez, la bolsa de Fabricio y el timo involucionan y la inmunocompetencia del ave pasa a depender del sistema inmune periférico. Los macrófagos están presentes tempranamente en el desarrollo del sistema inmune y sobreviven por largo tiempo. Estas células son activadas durante procesos inflamatorios y se multiplican por la influencia de factores de crecimiento producidos por linfocitos. Los macrófagos participan en procesos de quimotaxis, fagocitosis, lisis microbiana, digestión intracelular, lisis extracelular y secreción de monocinas, interferón e interleucinas (Giambrone J.J, 1996).

3.2.1.- DETECCIÓN DE INMUNOSUPRESION.

La atrofia de órganos linfoides y el agotamiento de los folículos linfoides son frecuentemente el resultado de la acción de agentes inmunosupresores. Por lo tanto, los cambios en los órganos como el timo y la bolsa de Fabricio son indicadores de inmunosupresión. Se puede determinar y analizar estadísticamente las diferencias y cambios macroscópicos en pesos de los órganos linfoides y pesos corporales entre grupos control y grupos infectados. (Giambrone J.J, 1996).

3.3.- FISIOLOGÍA Y ANATOMÍA DE LA BOLSA DE FABRICIO.

3.3.1.- DESARROLLO DE LA BOLSA DE FABRICIO.

La Bolsa de Fabricio es un órgano sacciforme característico de las aves, ubicado por encima de la cloaca. Se conecta con ella por un corto conducto que desemboca en el proctodeum. Se desarrolla a partir del 5° día de incubación como una evaginación del endodermo del intestino posterior. Aproximadamente a los 10 días de incubación este brote epitelial desarrolla una cavidad y su pared comienza a plegarse. Está revestida por un epitelio estratificado que comienza a invaginarse en el mesodermo circundante aproximadamente a los 12 días de incubación.. Las células linfoides serían células migrantes que poblarían el esbozo bursal.(Lawzewitsh, 1984)

La bolsa de Fabricio es un divertículo dorsal de la cloaca semejante a un saco esférico que se conecta con dicha cloaca mediante un ducto corto. La mucosa de la luz bursal se encuentra plegada ampliamente, cada pliegue contiene numerosos folículos linfoides separados unos de otros por medio de fibras de tejido conectivo. En la red reticular de los folículos, aparecen linfocitos apiñados de forma muy densa que ocupa una zona cortical externa, los cuales se encuentran separados de los linfocitos de la zona medular por una membrana basal y una capa simple de células epiteliales, en donde dichas células se unen con el epitelio de células cúbicas de la mucosa. Células especializadas en este sitio son capaces, mediante pinocitosis, de transferir material(por ejemplo bacterias) de la luz bursal a la médula folicular. (Gordón y Jordán 1985).

3.3.2.- ESTRUCTURA DE LA BOLSA DE FABRICIO.

La pared de la Bolsa está constituida, de adentro hacia fuera, por una túnica mucosa, la capa muscular y la túnica adventicia. La túnica mucosa forma pliegues, aproximadamente 12 y es la más desarrollada de las tunicas. Está constituida por:

a) Epitelio: es de tipo pseudoestratificado. En el se distinguen tres tipos de celulares. El tipo I es una célula oval de citoplasma claro con un contenido PAS positivo y sudanófilo. El tipo II es una célula cilíndrica de núcleo basal redondeado. Su citoplasma es basofilo y contiene gránulos PAS positivos. El tipo III, está representado por células caliciformes.

b) La lamina propia está formada por tejido conectivo rico en fibras reticulares, colágenas y algunas elásticas. Prácticamente está ocupada por folículos linfáticos, lo que determina que el tejido se reduzca a ocupar los espacios ínter y subfoliculares y formar el tejido subepitelial.

Los folículos linfoideos tienen forma poliédrica y están divididos en dos porciones, corteza y médula, separados por un epitelio cúbico de células indiferenciadas, que se continúan con el epitelio de revestimiento. El estroma del folículo está formado por células reticulares epiteliales, semejantes a las timicas. La corteza se colorea intensamente por el contenido de linfocitos, que ocupan los espacios dejados por las células reticuloepiteliales. Se pueden ver algunos linfoblasto y vasos sanguíneos. La médula, menos coloreada, debe su aspecto a la presencia de abundantes linfoblasto y algunos linfocitos medianos y pequeños. La túnica muscular posee fibras musculares lisas de disposición variable, en general responde al del tubo digestivo. La capa muscular periférica se continua con la adventicia o serosa. Entre las tunicas y el corion subfolicular hay abundantes vasos sanguíneos.

(Lawzewitsh, I. 1984)

3.4.- RELACION DEL PESO DE LA BOLSA CON EL PESO CORPORAL.

La relación del peso de la Bolsa de Fabricio con el peso corporal (BF/PC) puede ser correlacionada con inmunosupresión. Las aves entre 3 y 6 semanas de edad tienen normalmente un BF/PC de 2 a 4 , de 1 ó menos de 1 es indicativo de inmunosupresión y se observa en aves clínicamente enfermas y en aves decomisadas en al planta de procesamiento(Giambrone J.J,1996).

3.5.- EL BURSÍMETRO.

El Bursímetro es un instrumento plano de plástico con ocho agujeros, los cuales están calibrados desde pequeño(1) a grande (8), para usar en la medición del tamaño de la bolsa de Fabricio, en pollos durante el examen post mortem. Para usar el Bursímetro , se remueve la bolsa de Fabricio del ave. El agujero más pequeño a través del cual la bolsa pasa fácilmente, es el que determina su tamaño. En la medición de una parvada de aves, escoja diez aves las cuales sean representativas , para luego proceder a examinarlas.(Solvay Animal Health, boletín).

3.6.- TAMAÑO Y PESO DE LA BOLSA DE FABRICIO.

En el momento de la eclosión la Bolsa está formada y pesa aproximadamente 0.04 gramos. En el período prenatal crece rápidamente y al mes de vida representa el 0,42% del peso corporal. Sigue creciendo, pero ya menos rápido hasta los dos meses y medio de vida donde pesa 1,25 gramos. A partir de este momento comienza su involución hasta que a los

6 meses de edad completa su involución. Estos datos son generales, habiendo variaciones individuales y de especie. La Bolsa de Fabricio crece proporcionalmente con el desarrollo del ave hasta su madurez sexual. En las aves reproductoras, el peso del ave es 200 veces más que el peso de la Bolsa. En parrilleros, el peso del ave es 400 veces más que el de la Bolsa de Fabricio(Solvay Animal Health,boletín).

3.6.1.- CAUSAS QUE PRODUCEN VARIACIÓN EN EL TAMAÑO DE LA BOLSA.

Las células de la bolsa de Fabricio pueden ser dañada por varios factores durante el período de crecimiento. Esto es importante reconocer, aunque los virus de la Enfermedad Infecciosa Bursal, son los más frecuentes como causa primaria, muchos otros factores pueden causar atrofia de la bolsa. (Solvay Animal Health, Boletín).

3.6.2.- CAUSAS DE LA ATROFIA DE LA BOLSA.

- Enfermedad de Gumboro
- Enfermedad de Marek
- Infecciones Bacteriana (E.Coli)
- Infecciones por Reovirus
- Anemia Infecciosa Viral
- Micotoxinas
- Stress fisiológico
- Stress Social
- Otros

(Solvay Animal Health, boletín)

3.7.- ENFERMEDADES QUE CAUSAN LESIONES Y ATROFIA EN LOS ORGANOS LINFOIDES .

Con la finalidad de hallar evidencias de inmunosupresion en pollos parrilleros con cuadros de hepatopatias se estudiaron las alteraciones anatómicas e histopatológicas en los órganos

linfoides de aves de 35 – 49 días de edad, diagnosticados clínicamente e histopatológicamente con HCI, Aflatoxicosis y EIB. Se realizó la evaluación macroscópica (morfométricas) y microscópicas del hígado, órganos linfoides primarios(bolsa de Fabricio y timo) y secundarios (bazo, tonsilas cecales y glándulas de Harder) en busca de evidencias de atrofia. Todas las enfermedades estudiadas en este trabajo produjeron disminución del peso corporal y cambios macroscópicos y microscópicos en el hígado y en los órganos linfoides primarios y secundarios evidenciando cuadros de inmunosupresión. Los animales con Aflatoxicosis mostraron el hígado agrandado de color amarillento verdoso, graso y algunas veces con puntos necróticos. El timo, en todos los animales, presentaba hemorragias de tipo petequial en la superficie e interior del órgano. Se observó disminución significativa del peso relativo del timo y de la bolsa de Fabricio en todas las aves. Por otro lado, el peso relativo y el diámetro del bazo estaban aumentados en las aves afectadas por Aflatoxicosis y EIB.(Talavera B. Y colaboradores, 1995)

El virus de la IBF causa atrofia de la bolsa de Fabricio y del tejido linfoide humoral en las tonsilas cecales, glándula Harderiana y Timo. La relación BF/PC en aves con IBF puede ser de 0.5 ó menos al ser procesadas. Las infecciones con el virus de IBF durante la primera semana de vida causan una supresión permanente en la producción de anticuerpos. La IBF crea pollitos ,más susceptibles a la EM. Los virus de la leucocis aviar tienen como blanco a los linfocitos B y causan supresión de anticuerpos. La EM tiene como blanco a los linfocitos T y deprime la inmunidad mediada por células. Las consecuencias de una inmunosupresión por EM son un incremento en la susceptibilidad a coccidiosis y una baja respuesta de anticuerpos. El virus de la Anemia Aviar (AAA) causa inmunodepresión de los linfocitos B y T; macroscopicamente se puede observar cresta, patas y médula ósea pálida, también hay degeneración de la bolsa de Fabricio y del Timo.(Giambrone J.J, 1996).

3.7.1- INFECCIÓN DE LA BOLSA DE FABRICIO.

La infección de la bolsa de Fabricio (IBF) es una enfermedad contagiosa de etiología viral que afecta a pollos jóvenes. Se le conoce también como enfermedad de Gumboro, por el

sitio en el que se reportó por primera vez el aislamiento del agente etiológico. El virus ataca las células linfoides B siendo la bolsa de Fabricio el órgano más afectado. Esta enfermedad es causante de signos clínicos y mortalidad por sí misma con variación de la severidad, dependiendo de la cepa de campo que se encuentre en determinada región y, más gravemente, presenta una severa inmunodepresión que lleva a muchos problemas de enfermedades concomitantes y fallas en vacunaciones y los problemas económicos que tal cuadro provoca (Snider y col,1988).

3.7.1.1.- ETIOLOGÍA.

La IBF es causada por un virus de cadena doble de RNA, razón por la cual se le incluye en el género de los biRNAvirus. Se trata de un virus pequeño, cuya partícula viral es desnuda, característica que le confiere gran resistencia a agentes químicos y físicos. Es resistente al fenol, cuaternarios de amonio, éter, cloroformo y timerosal, así como a pH ácido y a temperaturas de hasta 60° C., pero se logra inactivar en presencia de yodo, formol y condiciones alcalinas. El virus de la IBF logra infectar a pollos, pavos, patos y aparentemente, también a avestruces, pero únicamente logra provocar manifestaciones clínicas en lo pollos jóvenes.(Snider y col.,1988).

3.7.1.2.- PATOGÉNESIS.

La infección causa necrosis de las células linfoides B que se encuentran en dicho órgano, lo cual da lugar a una severa inflamación. De acuerdo a la edad de la exposición, se declara la severidad de la inmunosupresión. Si la infección ocurre antes de las 2 semanas de edad, aquella puede ser permanente, en cambio, si la infección ocurre posteriormente, los efectos de la inmunosupresión son más erráticos. La importancia de la preferencia del virus por la

Bolsa de Fabricio, aparentemente puede explicar la razón de la relación entre la edad y la susceptibilidad a esta enfermedad, es decir, al parecer al iniciar el proceso de atrofia de la Bolsa comienza a perder importancia la infección.(Cambre J. F,2000)

3.7.1.3.- LESIONES MACROSCOPICAS.

A la necropsia, es común observar hemorragias en los músculos del muslo y de la pechuga, aunque las lesiones más importantes se presentan en el órgano blanco, la Bolsa de Fabricio. En los primeros días después de la infección, la Bolsa aumenta de tamaño, a veces hasta el doble de su peso. Inmediatamente después comienza a reducirse de tamaño y, más o menos, a partir del octavo día el órgano tiene un tercio de su peso. En el caso de la infección por cepas variantes la inflamación no acostumbra presentarse. La Bolsa comienza a mostrar un exudado edematoso desde el inicio del proceso inflamatorio, pero tiende a disminuir con el tiempo. Cepas muy patógenas causan hemorragias que a veces son tan intensas que las aves excretan heces sanguinolentas.(Cambre J. F, 2000).

Durante los primeros 2 a 3 días de la infección en la Bolsa de Fabricio se observa: aumento de volumen, edema, aspecto gelatinoso, contenido mucoso o cremoso de color amarillo, hemorragias petequiales. Del 4° al 5° día en adelante: atrofia de la Bolsa de Fabricio hasta quedar reducida a un tercio de su tamaño normal, contenido caseoso, hemorragias equimóticas (Morales 1992; Lamas 1992; Quezada 1988; Mosqueda y Lucio.1985; Whiteman y Bickford 1983).

La Bolsa de Fabricio puede estar atrofiada o adquirir una tonalidad gris- rojiza y el tamaño de 4 – 5 cm. de diámetro, cubierta por un moco vítreo y conteniendo coágulos y fibrina en sus pliegues y un exudado caseosos- hemorrágico, en caso de estar afectada por el virus infeccioso de la Enfermedad de Gumboro (Zarzuelo,P.E.,1982).

3.7.1.4.- LESIONES MICROSCÓPICAS.

La lesión característica es la necrosis y degeneración de linfocitos de la zona medular de los folículos linfoides de BF. A partir del primer día después de la infección se observa: edema, hiperemia, necrosis de los linfocitos de la región medular, infiltración de macrófagos en los folículos afectados e infiltración de heterofilos. Post infección, degeneración y necrosis de linfocitos en el área medular de los folículos bursales.(Lukert. P.D.Saif, Y:M:1995.; Mosqueda, T.A y Lucio, M.B.1985).

Las lesiones histopatológicas de la IBF se producen principalmente en las estructuras linfoides- Bolsa de Fabricio, Bazo, Timo, glándula de Harder y tonsilas cecales. A través de la microscopia luminosa se encontró que las lesiones más intensas fueron en la bolsa de Fabricio. Tan pronto como en el primer día posterior a la infección hubo degeneración y necrosis de los linfocitos en el área medular de los folículos bursales. Los linfocitos fueron sustituidos pronto por neutrofilos, restos picnóticos y células reticuloendoteliales hiperplásicas. Muchas veces se presentaron hemorragias, pero no furos una lesión constante.Todos los folículos linfoides estaban afectados hacia los 3 a 4 días posteriores a la infección. El aumento en el peso bursal en ese tiempo fue ocasionado por un edema severo, hiperemia y acumulación muy notable de neutrofilos. Al declinar la reacción inflamatoria se desarrollaron cavidades quísticas en las zonas medulares de los folículos, se produjeron necrosis y fagocitosis de neutrofilos y células plasmáticas, y hubo fibroplasia en el tejido conjuntivo interfolicular.La proliferación de la capa epitelial bursal provocó una estructura glandular de células epiteliales cilíndricas con glóbulos de mucina.(Calnek B. W, 1991).

3.7.1.5.- DIAGNOSTICO.

A la necropsia, es común observar hemorragias en los músculos del muslo y de la pechuga, aunque las lesiones más importantes se presentan en el órgano blanco, la bolsa de Fabricio.

En los primeros días después de la infección, la bolsa aumenta de tamaño, a veces hasta el doble de su peso. Inmediatamente después comienza a reducirse de tamaño y, más o menos, a partir del octavo día el órgano tiene un tercio de su peso. La bolsa comienza a mostrar un exudado edematoso desde el inicio del proceso inflamatorio, pero tiende a disminuir con el tiempo. Cepas muy patógenas causan hemorragias que a veces son tan intensas que las aves excretan heces sanguinolentas.(Muñoz, R, 2000).

1. En un brote agudo en pollos susceptibles, el curso corto de la enfermedad de Gumboro y las lesiones de la bolsa sugieren la presencia de la infección. Frecuentemente los signos y las lesiones son menos aparentes en brotes subsecuentes y en pollos con anticuerpos pasivos.
2. El examen serológico usando la prueba de precipitación en agar generalmente confirman el diagnóstico.
3. Si en el laboratorio hay disponibilidad de embriones susceptibles y antisuero positivo conocido, el virus puede aislarse a partir de la bolsa de Fabricio e identificarse por medio de la prueba de virus neutralización .
4. Si se dispone de instalaciones de pollo, se puede desafiar un grupo susceptible y otro inmune usando el virus aislado y comparando los signos y lesiones entre los grupos.
5. Se dice que las lesiones microscópicas de la bolsa son específicas de la enfermedad de Gumboro durante los estados tempranos de la enfermedad.
6. Se debe diferenciar la enfermedad de las infecciones por coccidiosis, síndrome hemorrágico y las infecciones por adenovirus.
7. En un brote agudo en pollos susceptibles, el curso corto de la enfermedad de Gumboro y las lesiones de la bolsa sugieren la presencia de la infección. Frecuentemente los signos y las lesiones son menos aparentes en brotes subsecuentes y en pollos con anticuerpos pasivos.
8. El examen serológico usando la prueba de precipitación en agar generalmente confirman el diagnóstico.

9. Si en el laboratorio hay disponibilidad de embriones susceptibles y antisuero positivo conocido, el virus puede aislarse a partir de la bolsa de Fabricio e identificarse por medio de la prueba de virus neutralización .
10. Si se dispone de instalaciones de pollo, se puede desafiar un grupo susceptible y otro inmune usando el virus aislado y comparando los signos y lesiones entre los grupos.
11. Se dice que las lesiones microscópicas de la bolsa son específicas de la enfermedad de Gumboro durante los estados tempranos de la enfermedad.
12. Se debe diferenciar la enfermedad de las infecciones por coccidiosis, síndrome hemorrágico y las infecciones por adenovirus.(Whiteman C.E.y Bickford, A.A, 1983)

La mejor manera de definir el papel de un desafío de IBD es analizar el órgano afectado- la bolsa de Fabricio. Esto se puede llevar a cabo realizando un análisis macro por medio de una evaluación subjetiva de atrofia / lesiones o por proporción de tamaño de bolsa a peso corporal (B: BW). La medida más sensible y exacta de daño a la bolsa es realizada por observación microscópica. La determinación clásica de las lesiones microscópicas se realiza utilizando un histopatólogo experto en tejidos aviares que da un puntaje de acuerdo al grado de lesión bursal.En Fort Dodge Animal Health, se ha usado el análisis de imágenes computarizadas como una manera práctica y comparable de estimar daño a la bolsa.(Muñoz R, 2000).

Las pruebas que se utilizan para diagnóstico serológico, son la prueba de precipitación en gel agar (cualitativa, detecta antígenos de grupo), micro virus suero neutralización (muy específica y capaz de adecuarse para fines de investigación a pruebas de diferenciación de serotipos,entre otras), y la prueba de ELISA (muy rápida y específica).(Muñoz R, 2000).

3.7. 1.6.- DIAGNOSTICO HISTOPATOLÓGICO.

El daño patológico a los tejidos de la bolsa incluyen: depleción de linfocitos, infiltración heterofílica, disminución de la longitud de las placas. Hemorragias, formación de quistes y

fibrosis (cambio tardío). El sistema de calificación para evaluar el grado del daño a la bolsa es de 0 a 4 y se basa en el grado de depleción de linfocitos. El daño histopatológico del timo puede evaluarse basándose en el grado de depleción de linfocitos, se considera también la proporción del espesor de la corteza con respecto al espesor de la médula y el grado de infiltración de macrófagos (Grieve, 1991).

3.7.1.7.- DIAGNOSTICO DIFERENCIAL.

El comienzo súbito de la enfermedad, con plumaje erizado y aspecto decaído de las aves en los brotes iniciales de la enfermedad son sugestivos de un brote agudo de coccidiosis. En algunos casos hay sangre en las deyecciones, lo cual puede conducir a la sospecha de coccidiosis. Sin embargo, las hemorragias musculares y el crecimiento edematoso o hemorrágico de la bolsa de Fabricio son sugestivos de IBF. Hay ciertas cepas nefrotóxicas del virus de la bronquitis infecciosa que producen nefrosis. Estos casos se pueden diferenciar de la IBF por el hecho de que no hay cambios en la Bolsa de Fabricio y porque preceden de ordinario a las muertes, signos respiratorios. No debe pasar inadvertida la posibilidad de que las dos enfermedades se originan de manera simultánea en una parvada. Jakowski y colaboradores comunicaron atrofia bursal en infección inducida de manera experimental con cuatro aislamientos de enfermedad de Marek. La atrofia se observó 12 días después de la inoculación, pero la respuesta histológica fue en definitiva distinta de la que se encuentra en la IBF. Grimes y King informaron que en infecciones experimentales en pollos libres de patógenos específicos (SPF) de in día de edad, con adenovirus aviario tipo 8, produjeron bolsas pequeñas y atrofia de folículos bursales a las dos semanas posteriores a la infección. Hubieron alteraciones macroscópicas en varios otros órganos tales como el hígado, bazo, páncreas y riñones, así como cuerpos de inclusión intranuclear en el hígado y el páncreas. (Calnek, B.W, 1991).

Por las **lesiones renales** se la debe diferenciar de:

Deshidratación.- Las lesiones renales y la congestión muscular pueden ser idénticas, pero están ausentes las hemorragias, la esplenomegalia y la lesión bursal.

Nefritis – Nefrosis.- Las lesiones son similares a las de la deshidratación, sin embargo en casos de nefritis nefrosis hay un porcentaje de animales con estornudo y están ausentes la esplenomegalia así como la atrofia de BF.

Enfermedad de Newcastle.- Además de las hemorragias en proventrículo y la deshidratación hay úlceras botonasas en intestino y tonsilas cecales.

Por las **hemorragias** se la debe diferenciar de:

Deficiencia de vitamina K.- Hemorragia en diversos órganos, no hay atrofia de BF.

Intoxicación por sulfas.- Hemorragias en diversos órganos, infarto en bazo, palidez de la médula ósea, no hay atrofia de BF.

Aflatoxicosis.- Hemorragias y atrofia de la bolsa de Fabricio; no hay necrosis de los linfocitos en BF. Es indispensable el examen serológico e histopatológico.

Enfermedad de Marek.- Además de la BF hay atrofia del timo, ausente en IBF.

Hepatitis Adenovirica.- Produce atrofia de la BF, además de hemorragias subcapsulares y áreas amarillentas en el hígado. Es necesario recordar que la Hepatitis no se presenta por sí sola, casi siempre va asociada a la IBF, por lo que se debe confirmar el diagnóstico de la IBF.(Mosqueda,T.A y Lucio, M.B, 1985)

3.8.- OTRAS ENFERMEDADES QUE CAUSAN ATROFIA DE LA BOLSA DE FABRICIO.

3.8.1.- ENFERMEDAD DE MAREK.

Las consecuencias de una inmunosupresión por EM son un incremento en la susceptibilidad a coccidiosis y una baja respuesta de anticuerpos, por lo tanto las aves se encontrarán disminuidas y con bajo rendimiento. La IBF crea pollitos más susceptibles a la EM.(Giambrone J.J. 1996).

La destrucción de la bolsa a una edad temprana por el virus de Gumboro o de Marek previene la programación de las células –B. De este modo el pollo no podrá responder a las enfermedades o las vacunas disminuyendo así la producción de anticuerpos.(Butcher G.D. y Miles R.D, 1994).

Una vez en el organismo del ave el virus infecta diferentes tipos de células, pero de especial interés es la infección de linfocitos B y T. La infección productiva o citolítica ocurre en células no linfoides y también en linfocitos especialmente B. Una infección productiva restringida se presenta en los linfocitos B de la bolsa, bazo y timo, durante la primera semana postinfección.(Morales O. E., 1993).

Las lesiones proliferativas se observan en la bolsa de Fabricio, la cual ocurre en el tejido interfolicular, cambios degenerativos se observan también en este órgano, así como el timo. En ambos órganos puede haber hipoplasia, pero en la bolsa de Fabricio también se observan quistes. (Gordon R.F y Jordan F.T, 1985).

La Bolsa de Fabricio y el timo presentan lesiones degenerativas, en aves afectadas por la Enfermedad de Marek. En infecciones experimentales la bolsa presentó atrofia cortical y medular, necrosis, formación de quistes, e infiltración linfoides interfolicular.

(Lozano B, 1992).

La observación de atrofia bursal coincide con las observaciones de investigadores en reportes anteriores. Esta lesión está determinada por la depleción de la población linfoides

de la bursa de Fabricio y su posterior reemplazo por tejido conectivo, y sucede en una etapa temprana cuando no hay ninguna lesión tumoral.(Morales O.E, 1993).

3.8.2.- HEPATITIS POR CUERPO DE INCLUSIÓN.

Macroscopicamente, los animales con HCI presentaron el hígado agrandado, de color marrón claro, con puntos necróticos y hemorragias petequiales en la superficie e interior del órgano y aumento notorio del líquido pericárdico. La demostración de las lesiones microscópicas típicas en el hígado incluyendo las inclusiones intranucleares, refuerzan fuertemente un diagnóstico en el trabajo de rutina. (Comotto G. 1986).

En el caso de los animales afectados por HCI, el diámetro del bazo se vio afectado. A pesar de esto último, todos los grupos mostraron alteración en la relación de diámetros bolsa de Fabricio/ bazo demostrando que este indicador macroscópico de inmunosupresión no es específico para EIB, lo cual no coincide con lo reportado por Morales (1993). (Talavera B. Y col.,1995).

3.8.3.- ANEMIA INFECCIOSA AVIAR.

El virus de la anemia infecciosa es bien conocido por sus propiedades inmunosupresoras y por su participación en diversos complejos de enfermedad y síndromes, en los que el virus de la Anemia Infecciosa (VAI) opera como un agente inmunosupresor que literalmente abre la puerta para la penetración de patógenos respiratorios de las aves. La infección

concomitante dada por VAI y VEIB empeora el curso de las infecciones respiratorias.(Zavala, G. 1999)

Las lesiones macroscópicas, en la Enfermedad de la Anemia Infecciosa, se caracterizan por: anemia, médula ósea pálida (adiposa), atrofia y palidez variable del timo, bursa y del bazo que dependen de la presencia de otros patógenos contaminantes que pueden influenciar al organismo. Después de la inoculación experimental las lesiones más comunes son la atrofia de los elementos hematopoyéticos de la médula y depleción severa de los linfocitos en el timo, bazo y tonsilas cecales, seguida de hiperplasia de las células reticulares. Se ha observado atrofia pasajera o ausencia de efecto sobre la bursa.(Cardozo B. Y Morales O, 2001).

En la Enfermedad de la Anemia Infecciosa de la aves, las lesiones histopatológicas se caracterizan por atrofia linfocítica en todos los tejidos hematopoyéticos y linfoides. En la bolsa se observa atrofia de los folículos linfoides y ocasionalmente focos necróticos.(Avellaneda, G.E y Villegas. P.1994).

Se puede detectar el agotamiento de los linfocitos del timo, bazo, bolsa de Fabricio y amígdala cecal, seguida de una hiperplasia de las células reticulares hinchazón de los hepatocitos en el hígado, causada por la invasión del virus de la Enfermedad de la Anemia Infecciosa (Cárdenas, Z. J. A.1994).

El virus de anemia aviar (AAA) causa inmunodepresión de los linfocitos B y T; macroscopicamente se puede observar cresta, patas y médula ósea pálida, también hay

degeneración de la bolsa de Fabricio y del Timo. Hemorragias musculares y de los órganos internos son frecuentes (Giambrone, J.J. 1996).

3.8.4.- INFECCION POR REOVIRUS.

Es difícil demostrar la inmunosupresión causada por algunas cepas de Reovirus en el campo. Sin embargo el Dr. John Rosenberger (Universidad de Delaware) ha aislado cepas de Reovirus con potencial inmunosupresor a partir de pollos de engorde con atrofia severa de la bolsa de Fabricio en el sur de los Estados Unidos. Quizá uno de los efectos indirectos más importantes de los Reovirus en la inmunosupresión está relacionado con su potencial para interferir con las vacunas contra EM, ya que algunas cepas de Reovirus parecen afectar la eficacia de la vacunación contra EM cuando son inoculadas a día de edad. Debe subrayarse que este efecto detrimental puede no ser aplicable a todas las cepas vacunales de Reovirus. Una recomendación básica es no mezclar vacunas contra EM con cepas de Reovirus que han sido modificadas para aplicación en el campo y no al día de edad (Zavala, G.1999).

3.8.5.- AFLATOXICOSIS.

Las aflatoxinas son metabolitos secundarios de una amplia variedad de hongos que crecen en granos y alimentos almacenados; existen tres grupos de Micotoxinas que se asocian con actividad inmunodepresora las aflatoxinas, la ocratoxina A y ciertas toxinas del grupo de los tricotecenos. Las más estudiadas y ampliamente distribuidas de las Micotoxinas son las aflatoxinas, un grupo de 14 metabolitos altamente tóxicos y carcinogénicos producidos por ciertas cepas de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* y *Penicillium puberulum* que crecen en granos y alimentos almacenados. El más intenso pero a la vez sutil efecto de las aflatoxinas es su capacidad para alterar la funcionalidad del sistema inmunológico.

La inmunodepresión causada por las aflatoxinas posee 5 características básicas:

- 1.- Inmunodepresión sin depresión en la formación de anticuerpos.
- 2.- Depresión en la síntesis de sustancias humorales no específicas (complemento e interferón).

3.- Inhibición de la fagocitosis por macrófagos y heterófilos.

4.- Atrofia de timo (efecto variable pero generalmente mínimo sobre la bolsa de Fabricio).

5.- Inhibición de la inmunidad celular, principalmente hipersensibilidad retardada cutánea, linfoblastogénesis y migración leucocitaria.

En un estudio realizado por Giambrone y col (1978) se evaluaron los efectos del consumo de 2.5 mcg/ g de aflatoxinas por 4 semanas, en pollos que fueron infectados con una cepa de campo de IBF ala 3° semana de edad. Los resultados obtenidos indican que los animales que recibieron AFLA + IBF presentaron una ganancia de peso menor a los animales que recibieron AFLA o IBF de forma individual; la mortalidad fue mayor en el grupo combinado y las lesiones observadas en la bolsa de Fabricio fueron mucho más severas, observándose atrofia, hemorragias ocasionales y destrucción completa de la arquitectura folicular normal; el 50% de los animales del grupo combinado presentó nefromegalia, uratosis y hemorragias musculares.(Valladares D.J.1992).

Las aflatoxinas son potentes inmunodepresores teniendo relación directa sus efectos con la concentración en la dieta y el tiempo de exposición de las aves. Además determinaros que los pesos relativos del timo y de la bolsa de Fabricio en pollos expuestos a aflatoxinas por 3 semanas eran menores a medida que se aumentaba la concentración de la micotoxina en al dieta (Thaxton y colaboradores, 1974)

Al producirse una involución de la Bolsa de Fabricio se alteran los factores humorales de defensa de las aves y al producirse el mismo efecto sobre el timo se afecta el sistema de inmunidad celular. Las aflatoxinas pueden inhibir la respuesta primaria de hemaglutininas y concomitantemente disminuir el tamaño de los tejidos responsables de iniciar la competencia inmunológica.(Osuna O, 1993).

Las aflatoxinas incrementan la susceptibilidad de las aves a Salmonelosis, Aspergilosis, coccidiosis, Enfermedad de Marek, Infección por E .Coli e IBF. Los efectos dependen de los niveles de la toxina y del lapso de tiempo por el que haya sido consumida; así como

también son importantes la edad del ave y la línea genética. Las ocratoxinas, toxina T-2 y las fumonsinas causan depresión de las células productoras de Ig's en los órganos linfoides, además de una reducción en el tamaño de la bolsa de Fabricio y del timo.(Giambrone J.J.1996).

3.9.- Técnica Histológica.

Las técnicas histológicas comprenden todos los procedimientos especiales a los que se someten las muestras o tejidos para su posterior estudio al microscopio. Estos procedimientos se inician con:

3.9.1. La practica de Fijación, que consiste en : **a) la Obtención del material** después del sacrificio y necropsia de los animales, **b) Elección de la sustancia Fijadora** según el estudio que se realizará, **c) Tamaño de las muestras** a fijar de 1 cm.de espesor, **d) Volumen del fijador** entre 40 a 50 veces el de las piezas, **e) Tiempo de fijación** dependiente del poder de penetración de la sustancia fijadora en este caso entre 24 a 48 horas (DI FIORE, 1981)

3.9.2. Obtención de los cortes histológicos previa inclusión en parafina.

Con la finalidad de obtener muestras lo suficientemente delgadas y uniformes para que los rayos luminosos puedan penetrarla para obtener una imagen microscópica adecuada, se deben cortar las muestras fijadas a 5 micras de espesor utilizando un Micrótopo de Deslizamiento. Para conseguir que las muestras fijadas adquieran la consistencia más favorable y uniforme para posibilitar la obtención de cortes histológicos a través del Micrótopo, se procede a incluirlas en parafina, para ello se realizan los siguientes pasos: **a) Deshidratación** de las muestras utilizando alcohol etílico de graduación ascendente, **b) Impregnación** por un solvente de la parafina, para facilitar la penetración de la parafina en

al muestra y **c) Penetración** de la parafina líquida a la muestra mientras se encuentra en una estufa a 56°C y la posterior formación del bloque de parafina conteniendo el tejido (DI FIORE, 1981).

3.9.3. Coloración con Hematoxilina – Eosina.

Con la finalidad de facilitar la diferenciación de las estructuras microscópicas que conforman los tejidos se recurre al empleo sucesivo de soluciones colorantes seleccionadas que tiñan selectivamente dichas estructuras. La técnica de coloración con **Hematoxilina – Eosina** incluye los siguientes pasos: **a)** Extensión y adhesión de los cortes al portaobjetos, **b)** Desparafinización o Eliminación de la parafina, **c)** Hidratación de la muestra, **d)** Coloración con una laca de Hematoxilina, mediante coloración progresiva,

e) Viraje, para neutralizar la acidez del hemalumbré, **f)** Coloración por la Eosina al 1 %, mediante coloración regresiva, **g)** Diferenciación, **h)** Aclaración o diafanización, para conferir al tejido un índice de refracción semejante al del vidrio, **i)** Montaje con un cubreobjetos para proteger al tejido coloreado y garantizar su conservación (DI FIORE, 1981).

3.9.4.- CALIFICACIÓN DE LAS LESIONES MICROSCÓPICAS DE LA BOLSA.

La calificación de las lesiones de la bolsa de Fabricio se evaluaron con una escala de 0 a 4, como sigue:

0= Normal

1= Lesiones leves

2= Lesiones Moderadas

3= Lesiones moderadas, la tercera parte o la mitad de los folículos con atrofia o necrosis de las células.

4= Lesiones severas , atrofia de todos los folículos, inflamación y necrosis aguda.

(Boletín técnico VAXFacts, Solvay Animal Health, Inc.1994)

IV. MATERIAL Y METODO

4.1. MATERIAL

4.1.1 Localización del área de Estudio.

Este trabajo de investigación se realizó en granjas de pollos parrilleros ubicadas en el área avícola de la provincia Andrés Ibáñez del Departamento de Santa Cruz, Bolivia. Dicha provincia geográficamente está situada entre los 17°47' de latitud Sur y los meridianos 63°09' de longitud Oeste y tiene una altitud de 417 metros sobre el nivel del mar. Con un clima subtropical semi-húmedo, cuya temperatura media anual es de 22.9°C, una humedad relativa del 80% y una precipitación pluvial de 1.200 mm. (Instituto Geográfico Militar, Viru Viru, 2001).

El área de muestreo fue dividida en cuatro cuadrantes :

Cuadrante I (Nor- Este): comprendieron las granjas que se encuentran hacia la derecha de la carretera al Norte e izquierda de la Carretera a Cotoca.

Cuadrante II (Sur – Este): Las granjas ubicadas a la izquierda del camino principal a las brechas del Sur (Av. Santos Dumont) y derecha de la carretera a Cotoca.

Cuadrante III (Nor – Oeste): Las granjas ubicadas a la izquierda de la carretera al Norte y derecha de la carretera antigua a Cochabamba.

Cuadrante IV (Sur – Oeste): Las granjas ubicadas a la izquierda de la antigua carretera a Cochabamba y derecha del camino principal a las brechas del Sur (Av. Santos Dumont).

4.1.2.Unidad Muestral.

Para esta investigación se tomaron las bolsas de Fabricio y bazo, de 7 pollos parrilleros hembras, escogidos al azar, en cada semana, desde el 1er al 42do día de edad (1, 7, 14, 18, 21, 28, 35 y 42) de cada una de las 5 granjas elegidas. Haciendo un total de 932 muestras.

4.2. METODOS.

4.2.1. Método de Campo

En cada granja se eligió un lote, en el cual se encontraban los pollos en el 1er día de edad (etapa de inicio), de dicho lote se escogieron 7 pollos al azar (1,7, 14, 21, 28, 35 y 42), los cuales fueron trasladados vivos en jaulas adecuadamente identificadas al Laboratorio de Patología Aviar de la Asociación Departamental de Avicultores.

Cada granja presentó un programa de vacunación, aplicado contra las diferentes enfermedades. Del total de las granjas en estudio se encontraron cuatro programas distintos.

VACUNAS

	Newc. (B1)	1° Gumboro	Newc. (La Sota)	2° Gumboro
PROGRAMA 1	3 d	6 – 10 d	14 d	
PROGRAMA 2	2 – 8 d	11 – 15 d	19 – 22 d	15 d
PROGRAMA 3	7 – 8 d	11 – 15 d	14 – 21 d	28 d
PROGRAMA 4	8 d	14 d	22 d	

4.2.2. Método de Laboratorio

En el Laboratorio de Patología Aviar de la Asociación Departamental de Avicultores, se realizó la toma de muestras de la siguiente manera:

Las aves fueron pesadas individualmente, utilizando una balanza tipo reloj (Poyear). Se sacrificaron las aves y se realizó la necropsia siguiendo las técnicas apropiadas, se removieron las bolsas de Fabricio y el bazo, para su respectivo pesaje en una Balanza Analítica, electrónica de precisión con sensibilidad de 0,0001g (marca OHAUS).

Se observó el aspecto macroscópico de cada bolsa de Fabricio y bazo in situ.

Utilizando el Bursímetro se midieron las bolsas clasificándolas de acuerdo a su diámetro (entre 0 y 8).

4.2.2.1.- ESTUDIO DEL DESARROLLO DE LOS ORGANOS LINFOIDES.

Para cada pollo se calculó la relación entre el peso de los órganos linfoides y el peso corporal; denominándose, Índice Morfométrico: Relación entre el peso de la Bolsa de Fabricio y peso corporal (Rbo) ; el peso del bazo y peso corporal (Rba), además se obtuvo la relación del peso entre órganos: peso de la bolsa de Fabricio y peso del bazo (Bo/ Ba), utilizando las formulas propuestas por Grieve (1991):

Índice Morfométrico = $\text{Peso del órgano (gramos)} / \text{Peso corporal (gramos)} * 1000$

Relación entre órganos = $\text{Peso del órgano 1 (gramos)} / \text{Peso del órgano 2 (gramos)}$

4.2.2.2.- OBSERVACIÓN DE LAS LESIONES MACROSCOPICAS DE LA BOLSA

DE FABRICIO Y DEL BAZO.

Se observaron las lesiones macroscópicas de la Bolsa de Fabricio y del Bazo de las aves en estudio. Se tomó en cuenta el grado de congestión (leve, moderada o grave), color del órgano (blanquecino o amarillento), tamaño (normal o atrofiado), hemorragias (petequiales o difusas) y presencia o ausencia de secreción (exudado seroso o caseoso).

En cuanto a la observación del Bazo, se describieron las lesiones encontradas, tomando en cuenta el color (rojizo o pálido) y tamaño (pequeño o grande), comparando cada órgano con los demás del grupo y se realizó la clasificación de los órganos de acuerdo a la lesión.

4.2.2.3.- OBSERVACION DE LAS LESIONES MICROSCOPICAS DE LA BOLSA DE FABRICIO

Se tomaron muestras de las bolsas de Fabricio, colocándolas en formol Bufferado al 10 %, durante 24 a 48 horas, en pollos hasta las dos primeras semanas de edad las bolsas fueron fijadas enteras, luego en pollos de mayor edad se tomó la mitad del órgano.

Estas muestras fueron correctamente identificadas y se trasladaron al Laboratorio de Histopatología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma Gabriel René Moreno.

En el Laboratorio de Histopatología, las muestras fijadas fueron procesadas siguiendo técnicas histológicas rutinarias, que consistieron en: obtención de cortes histológicos de 5 micras de espesor previa inclusión de parafina, coloración con Hematoxilina – Eosina y

posterior observación en un microscopio óptico binocular (OLIMPUS) para la evaluación

de las estructuras de la bolsa de Fabricio dando el respectivo grado a cada órgano observado, con una puntuación de 0 a 4 según el grado de lesión encontrada

(Cuadro N° 1)

CUADRO N° 1

LESIONES MICROSCÓPICAS DE LA BOLSA DE FABRICIO

GRADO	DESCRIPCION
0	<ul style="list-style-type: none"> - Sin lesiones - Folículos llenos de linfocitos(zona cortical y zona medular) - Epitelio normal - Espacio interfolicular delgado.
1	<ul style="list-style-type: none"> - Depleción central leve de folículos linfoide - Leve necrosis celular focal en algunos folículos - Estroma poco engrosado - Formaciones quísticas en el epitelio - Congestion leve - Edema interfolicular - Infiltración por heterofilos en los espacios íter foliculares
2	<ul style="list-style-type: none"> - La tercera parte o la mitad de los folículos atrofiados o con necrosis de las células - Depleción linfoide moderada (medular) - Edema interfolicular - Engrosamiento del estroma - Hiperplasia del epitelio con formaciones glandulares moderada - Formaciones quísticas en el epitelio
3	<ul style="list-style-type: none"> - Necrosis folicular - Tejido conectivo fibroso en espacio interfolicular - Ausencia de linfocitos en los nódulos - Atrofia de folículos linfoide - Hiperplasia del epitelio con formaciones de tipo glandular - Heterofilos (granulados- grandes de color Rosado) - Congestión - Hemorragia - Formaciones quísticas en los folículos
4	<ul style="list-style-type: none"> - Atrofia severa de todos los folículos - Inflamación - Necrosis aguda - Autolisis

Fuente: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (U.A.G.R.M), Santa Cruz – Bolivia.

Boletín Técnico VAX FACTS - Solvay Animal Health (EE.UU.)

4.2.3.- Método Estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados a través de pruebas de variables categóricas y medidas de tendencia central. Se obtuvo la relación Peso Corporal – Bolsa, Peso corporal-Bazo y Peso Bolsa – Bazo, mediante formulas estándares establecidas. Además se utilizó el método Excel 97.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

a) PESO Y DIAMETRO DE LA BOLSA DE FABRICIO.

El peso promedio y diámetro obtenido semanalmente desde el 1er día de edad hasta el día 42, fue de : 0.07 g con diámetro N° 1; 0.27 g con diámetro N° 2 ; 0.68 g con diámetro N° 3;

1.36 g con diámetro N° 4; 1.66 g con diámetro N° 4; 1.18 g con diámetro N° 3 y 0.95 g con diámetro N° 3 al 1°,7°,14°,21°,28°, 35° y 42° días de edad, respectivamente. Comportándose el crecimiento de forma similar al grupo control . (cuadro N° 2)

Como se puede observar la bolsa de Fabricio incrementó su peso y diámetro en forma armónica solo hasta los 28 días de edad, para posteriormente disminuir lentamente hacia el final del ciclo productivo. Resultados no totalmente coincidentes con los reportados por Ulloa (1999), quien encontró un desarrollo creciente y armónico con su diámetro hasta los 42 días de vida. Con pesos de 0.13 g y 1.85 g, respectivamente. Sin embargo en el presente estudio el peso a la primera semana fue de 0.27 g, superando en un 107,6% el valor dado por Ulloa (1999), mientras que al final del ciclo el peso de la bolsa apenas alcanzo el 51,35% del peso citado.

b) VARIACIÓN DEL INDICE MORFOMETRICO RBO Y RBA.

El índice RBO mostró un aumento sostenido hasta los 21 días de edad y una disminución entre los 28 y 42 días. Indicando esto que la bolsa de Fabricio se desarrollo en forma proporcional a la evolución del peso corporal hasta la tercera semana para posteriormente disminuir de tamaño. (Cuadro N° 3).

El índice RBA, mostró un aumento sostenido durante las 6 semanas de estudio, en consecuencia se puede concluir que el bazo experimento un aumento semanal de peso proporcional al peso corporal, datos coincidentes con los de Ulloa (1.999).

Al analizar los resultados obtenidos en este estudio, se observa que los valores son coincidentes con los registrados por Ulloa (1.999), además de ser similar al grupo control.

c) VARIACIÓN SEMANAL DE LA RELACION ENTRE ORGANOS LINFOIDES.

En el presente estudio la relación entre el peso de la Bolsa de Fabricio y el Bazo (índice Bo: Ba), se incrementó hasta los 21 días de edad, para disminuir notablemente a partir de la 4ª semana de edad. Comportamiento similar al grupo control. (Cuadro N° 4),

Asimismo, durante las primeras 4 semanas el Índice Bo: Ba, mantuvo un valor superior a uno, indicando que la bolsa de Fabricio tuvo un peso promedio mayor que el bazo durante ese periodo. Siendo estos datos coincidentes con los encontrados por Ulloa (1.999).

d) COEFICIENTES DE CORRELACION.

Los coeficientes de correlación (Cuadro N° 5), obtenidos en el presente estudio son valores evidentemente altos, lo cual se traduce en un alto grado de asociación entre las variables estudiadas. Al respecto, Ulloa (1.999), obtuvo altos coeficientes de correlación ($> 0,75$) entre el peso vivo y el peso de los órganos Linfoides y entre los pesos de los órganos Linfoides, lo que coincide con los obtenidos en el presente trabajo.

e) EXAMEN MACROSCOPICO DE LA BOLSA DE FABRICIO.

Se analizó el aspecto macroscópico de la Bolsa de Fabricio, encontrándose que el 79,22% (793 bolsas) presentaron lesiones leves, como congestión o algún cambio de color en el órgano; el 20,28% (203 bolsas) presentaron lesiones moderadas que se calificaron por la presencia de hemorragias petequiales, disminución en el tamaño y cambio de color; sólo el 0,5% presentaron lesiones graves con una hemorragia difusa, atrofia marcada, sin secreción serosa o caseosa (Cuadro N° 6).

En el grupo control no se observaron lesiones macroscópicas de valor, por lo cual no se realizó el análisis correspondiente.

f) EXAMEN HISTOPATOLÓGICO DE LA BOLSA DE FABRICIO.

Con el fin de profundizar todavía más en el conocimiento de la situación sanitaria de una empresa o región, en lo referente a las enfermedades inmunosupresoras, además del programa de monitoreo, podemos realizar exámenes histopatológicos. Las lesiones microscópicas de la Bolsa de Fabricio se deben calificar del 0 al 4 (siendo 0 la ausencia de lesiones aparentes y 4 la depleción intensa y necrosis de la región medular de los folículos). (Manual FORT DODGE).

Utilizando los indicadores histológicos se encontraron los siguientes resultados: de un total de 932 muestras, un 20,47% (191 bolsas), se clasificaron en el grado "0"; 61,58 % (579 bolsas) se clasificaron en el grado "1"; 13,31% (124 bolsas), se ubicaron en el grado "2" y solo un 3,65% (34 bolsas), en el grado "3" y 0,97% (9 bolsas) se ubicaron en el grado "4".

Como se puede observar, un 82,05 % de las bolsas no presentaron lesiones que indiquen daños que comprometa a la respuesta inmunológica de las aves, este porcentaje se observó entre la primer y cuarta semana de edad. Con respecto a las bolsas que se clasificaron en el grado "2", se evidenció una moderada depleción linfocítica con algunas formaciones quísticas en el epitelio, atrofia de los folículos linfocíticos menor a la tercera parte del total de los folículos observados, congestión moderada y presencia de heterófilos en algunos casos, encontrándose estas entre la quinta y sexta semana de edad de los pollos.

Al tercer grado (3,65%), le correspondió bolsa de Fabricio de aves entre los 35 y 42 días de edad, con lesiones compatibles de atrofia fisiológica, más que debido a problemas de reacción vacunal o enfrentamiento de campo (Cuadro N° 7).

En el grupo Control se encontró que el 22,45% (11 bolsas) se clasificaron en el grado "0"; el 71,93% (35 bolsas), grado "1" y 6,12 % (3 bolsas), grado "2". Concluyendo así que el 93,88 % de las muestras presentaban características normales de desarrollo del órgano a medida que aumentó la edad de los pollos (Cuadro N° 9).

CUADRO N° 2

PESO Y DIÁMETRO DE LA BOLSA DE FABRICIO

Cuadro 2: Evolución del Peso y Diámetro de la Bolsa de Fabricio				
	Grupo en Estudio		Grupo Control	
Edad (días)	Peso (g)	Diámetro	Peso (g)	Diámetro
1	0,07	1	0,07	1
7	0,27	2	0,1	2
14	0,68	3	0,29	2
21	1,36	4	0,37	2
28	1,66	4	0,96	3
35	1,18	3	0,68	3
42	0,95	3	0,39	3

CUADRO N° 3

VARIACIÓN DEL INDICE MORFOMETRICO RBO Y RBA

Cuadro 3: Evolución Semanal del Índice RBO – RBA				
	Grupo en Estudio		Grupo Control	
Edad (días)	RBO	RBA	RBO	RBA
1	1.53	1.53	1,35	0,4
7	2.23	1.90	1,29	0,25
14	2.20	1.39	2,36	0,74
21	2.34	1.29	2,16	0,62
28	1.72	1.50	2,81	0,90
35	0.89	1.55	0,93	1,47
42	0.61	1.22	0,35	1,04

CUADRO N° 4

VARIACIÓN SEMANAL DE LA RELACION ENTRE ORGANOS LINFOIDES

Cuadro 4: Evolución Semanal del Índice BO – BA		
	Grupo en Estudio	Grupo Control
Edad (días)	BO/BA	BO/BA
1	1.00	3,47
7	1.17	3,07
14	1.58	3,29
21	1.81	3,27
28	1.14	3,06
35	0.58	0,63
42	0.50	0,33

CUADRO N° 5**COEFICIENTES DE CORRELACION**

Cuadro 5: Coeficiente de Correlación Entre el Peso Vivo y Organos Linfoides		
VARIABLES ASOCIADAS	R	Ecuación
Peso vivo – Peso Bolsa	0,98	$Y = -2E-06x^2 + 0.0035x - 0.1217$
Peso vivo – Peso Bazo	0,97	$y = 269.24x - 382.62$
Peso Bolsa – Peso Bazo	0,76	$y = 0.9443x + 0.0095$

CUADRO N° 6

LESIONES MACROSCOPICAS DE LA BOLSA DE FABRICIO Y BAZO

EDAD (días)	BOLSA DE FABRICIO						BAZO			
	LESION- I		LESION – II		LESION – III		LESION – I		LESION – II	
	Cant	%	Cant.	%	Cant.	%	Cant.	%	Cant.	%
1	140	14.0	3	0.29	0	0	119	11.88	24	2.39
7	136	13.5	7	0.69	0	0	129	12.0	14	1.39
14	124	12.4	19	1.89	0	0	129	12.88	14	1.39
21	120	12.0	23	2.29	0	0	128	12.78	15	1.49
28	101	10.0	40	4	2	0.19	131	13.08	12	1.19
35	83	8.3	58	5.79	2	0.19	133	12.28	10	0.99
42	89	8.9	53	5.29	1	0.09	125	12.48	18	1.79

CUADRO N° 7

RESUMEN GENERAL DE LESIONES HISTOPATOLÓGICAS DE LA BOLSA DE FABRICIO

EDAD(DIAS)	GRADO 0		GRADO 1		GRADO 1		GRADO 3		GRADO 4		TOTAL	
	Cant	%	Cant	%	Cant	%	Cant	%	Cant	%	Cant	%
1	50	5.36	81	8.69	3	0.33	0	0	0	0	134	14.38
7	46	4.93	68	7.29	1	0.11	0	0	0	0	125	12.33
14	79	8.47	51	5.47	2	0.21	0	0	0	0	132	14.15
21	15	1.61	122	13.1	1	0.11	0	0	0	0	138	14.81
28	0	0	117	12.5	18	1.93	1	0.11	3	0.33	139	14.92
35	1	0.10	86	9.23	40	4.29	8	0.86	4	0.43	139	14.9
42	0	0	49	5.26	59	6.33	25	2.68	2	0.21	135	14.9
TOTAL	191	20.5	574	61.6	124	13.31	34	3.65	9	0.97	932	100

CUADRO N° 8

LESIONES HISTOPATOLÓGICAS DE LA BOLSA DE FABRICIO
(GRUPO CONTROL)

EDAD (Días)	GRADOS					TOTAL
	0	1	2	3	4	
1	4	3				7
7	3	3	1			7
14	4	3				7
21		5	1			7
28		7				7
35		7				7
42		7				7
TOTAL	11	35	3	0	0	49

VI. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en las cuales se realizó este estudio y analizados los resultados obtenidos, se puede arribar a las siguientes conclusiones:

- El peso y diámetro de las Bolsas de Fabricio se incrementaron armónicamente hasta los 28 días de edad, decreciendo hacia los días 35 y 42.
- El índice Morfométrico (RBO y RBA) aumentó sostenidamente hasta los 42 días de edad.
- Durante los primeros 28 días el índice Bo:Ba, mantuvo un valor superior a 1 a partir del 7° día de edad.

- Las lesiones histopatológicas de la Bolsa de Fabricio encontradas obedecen a reacciones por el virus vacunal, que no son atribuidas a lesiones provocadas por el virus de campo de la Enfermedad de Gumboro u otras enfermedades que afectan a la Bolsa.
- El Grupo Control permitió comparar el desarrollo y la estructura histopatológica de la Bolsa de Fabricio, así mismo el comportamiento de los diferentes índices productivos. Demostrándose que la vacuna produce cambios en la estructura de la Bolsa sin provocar daños que comprometan al sistema inmunológico de las aves en estudio.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

AVELLANEDA, G. E y VILLEGAS, P. 1994. Anemia Infecciosa Aviar. Avicultura Profesional. Vol.11 N° 4 U.S.A . pp 162 - 164

BUTCHER, G.D. y MILES, R.D.1994. Como prevenir la enfermedad. Industria Avícola. Edición Latinoamericana de Poultry International. Watt Poultry Illinois – EUA. Volumen 41, Número 2, pp. 18 – 24.

CALNEK, B.W. 1991. Infección de la Bolsa de Fabricio. Enfermedades de las Aves Primera edición. Editorial Manual Moderno, S.A. México D.F. México. pp. 797 – 811.

CAMBRE, J.F. 2000. Seguimiento y Control de la Infección de la Bolsa de Fabricio. En Memorias de XVI Congreso Centroamericano y del Caribe de Avicultura. Panamá Pp 381 – 383.

- CARDENAS, Z. J. A. 1994. La Anemia Infecciosa de los Pollos. Avicultura Profesional. México D.F. – México. Pp. 16 – 20.
- CARDOZO, B. Y MORALES, O. 2001. Anemia Infecciosa de las Gallinas. Boletín Técnico. Santa Cruz – Bolivia. Pp. 4 –5.
- COMOTTO, G.E. 1986. Los Programas de Vacunación. Sanidad Avícola. Universidad Agraria. Perú. Pp. 11 – 14.
- DI FIORE, M. S. H. 1981. Diagnóstico Histopatológico. 8va. Edición. Editorial El Ateneo. Buenos Aires – Argentina. Pp. 15 – 25.
- FORT DODGE, 1998. Programa de Monitoreo de la Bolsa de Fabricio. Boletín Técnico. pp 3 -6
- GIAMBRONE, J.J. 1996. Inmunosupresion Causas y Prevención .Avicultura Profesional. Editorial Antártica S.A. Santiago – Chile. Volumen 14, Número 5 pp. 42 –45.
- GRIEVE D.B. 1991. Las causas y evaluación de la inmunosupresion. En Memorias XII Congreso Latinoamericano de Avicultura, Quito Ecuador, Casa de la cultura Ecuatoriana. pp 1-16.
- GONZALES, M.C. 1992. Causas de Inmunosupresion. En Memorias de III Jornadas Medico Avícola. Editores Ceniceros M.A. y Tavera S. México. Pp. 86 –87.
- GORDON, R.F. y JORDAN F.T.W. 1982. Bursitis Infecciosa. Enfermedades de las Aves. Traducido al Español por Ocampo Camperos L., de la 2º Edición. Editorial El Manual Moderno. México. pp. 78. y 126 – 130.

----- 1985. Enfermedades de las aves . Sistema Inmunitario. 2da. Edición.
El Manual Moderno. México. Pp 313 –315.

LAMAS da Silva J.M. 1992. Doença de Gumboro. Patología y Perjuizos económicos, En
Memorias Conferencia Apinco de Ciencia e Tecnología Avícola , Fundacao
Apinco de Ciencia e Tecnología Avícola, Santos Brasil. Pp 59.

LAWZEWITSH, I. 1984. Lecciones de Histopatología Veterinaria, Vol. 3 . Editorial
Hemisferio Sur S.A. Tercera Edición. Buenos Aires – Argentina. pp. 4 – 10;
14 – 16.

LOZANO, B. 1992. Enfermedad de Marek. En Memorias III Jornadas Medico Avícola.
U.N.A.M. México. pp 124 – 126.

LUKERT, P. D. y Saif, Y. M. 1995. Infección de la Bolsa de Fabricio. En Calnek. Editorial
El Manual Moderno S.A. Mexico D.F. – Mexico. pp 804 – 805.

MORALES, O.E. 1992. La Enfermedad de Gumboro En memorias II Simposio de Ciencia
y Tecnología Avícola, Santa Cruz de la Sierra – Bolivia. Pp 23 – 31.

----- 1993. La Enfermedad de Marek Como Factor Inmunodepresor. En
Memorias I seminario técnico Avícola. AMEVEA – Bolivia. pp. 1-3

----- 1995. Inmunosupresion en la Enfermedad de Marek. En Memorias. XIV
Congreso Latinoamericano de Avicultura. AMEVEA – Chile. pp 31 – 34.

MOSQUEDA, T. A. y LUCIO, M.B. 1985. Infección de la Bolsa de Fabricio.
Enfermedades Comunes de las Aves Domesticas. 1° Edición.
UNAM. México. D.F. México. pp. 27 – 34.

- MUÑOZ, R. 2000. Utilización de Imágenes Computarizadas para medir Gumboro. En Memorias XVI Congreso Centroamericano y del Caribe de Avicultura. Panamá. pp. 351 – 353 y 381 – 382.
- OSUNA, O. 1993. Efectos de la Micotoxinas en la Inmunidad de las aves. En Memorias. I Seminario Técnico Avícola. AMEVEA – Bolivia. pp. 1 –2.
- QUEZADA, F. J. 1988. El Control de la Enfermedad de Gumboro. Vineland Laboratories, Boletín Técnico N° 16. pp 1 - 7
- SNIDER y Col. 1988. Differentiation of infectious bursal diseases viruses directly from Infected tissues with neutralizing monoclonal antibodies. Evidence of major Antigenic shift in recent field isolates. Avian Diseases. pp 535 –539.
- SOLVAY ANIMAL HEALTH, inc.1985. Bursímetro. Boletín Técnico. EUA. pp. 1 – 3.
- 1994. Boletín Técnico VAXFACTS. E.E.U.U.
- TALAVERA, B. Y Col. 1995. La solidez Inmunológica Es Esencial Para el Aparato respiratorio. En Memorias. Congreso Latinoamericano de Avicultura. Perú. pp. 42 – 43.
- ULLOA, J. H. 1999. Caracterización del desarrollo de la Bolsa de Fabricio, Timo y Bazo en pollos Broilers comerciales. En memorias, XVI Congreso Latinoamericano de Avicultura . Chile. Pp. 313 – 317.
- VALLADARES D. J. 1992. Inmunodepresión Inducida Por la Interacción de las Aflatoxinas y del Virus de la Infección de la Bolsa de Fabricio. En Memorias III Jornadas Medico Avicola. U.N.A.M. Mexico D. F. – Mexico. pp 245 –247.

- WHITEMAN, C. E. Y BICKFORD, A. A. 1983. Enfermedad Infecciosa de la Bolsa de
En Manual de Enfermedades de las Aves. 2da. Edición. Asociación Americana
De Patólogos Aviares. EUA. pp. 41 – 42.
- ZAVALA G. 1999. La Solidez inmunológica es Esencial Para el aparato Respiratorio. En
Memorias XVI Congreso Latinoamericano de Avicultura. Asociación Peruana de
Avicultura. Asociación Peruana de Avicultura. Lima – Perú . pp 42 – 43.
- ZARZUELO, P.E. 1982. Vademécum de la Patología Infecciosa de las Aves
Domésticas. 1era. Edición. Editorial Aedos. Barcelona – España.
pp. 148 – 152.

VII. ANEXOS

CUADRO N° 9

LESIONES HISTOPATOLÓGICAS DE LA BOLSA DE FABRICIO CON RELACION A LOS DIFERENTES PROGRAMAS DE VACUNACIÓN

PROGRAMA	GRADO 0		GRADO 1		GRADO 2		GRADO 3		GRADO 4		TOTAL	
	Cant	%	Cant	%	Cant	%	Cant	%	Cant	%	Cant	%
1	14	14.4	61	63	15	15.5	0	0	7	7.21	97	100
2	75	21.4	197	56.12	55	15.6	24		0	0	351	100
3	100	22.9	271	62.29	54	12.4	6	1.37	4	0.9	435	100
4	10	21.3	30	64	4	8.5	3	6.38	0	0	47	100

