

## VACUNACIÓN CONTRA LA ENFERMEDAD INFECCIOSA DE LA BURSA VÍA ASPERSIÓN Y VÍA AGUA DE BEBIDA EN POLLOS DE CARNE

### COARSE SPRAY AND DRINKING WATER VACCINATION AGAINST INFECTIOUS BURSAL DISEASE IN COMMERCIAL BROILERS

Diana Castellanos C.<sup>1</sup>, Eliana Icochea D.<sup>1,3</sup>, John Guzmán G.<sup>1</sup>, Pablo Reyna S.<sup>1</sup>, Rosa Perales C.<sup>2</sup>

#### RESUMEN

Se comparó dos vías de aplicación de vacunas contra la Enfermedad Infecciosa de la Bursa en pollos de engorde, usando vacunas con cepas intermedia-intermedia en un programa de vacunación a los 7 y 17 días de edad. Se trabajó con 69 100 pollos de la línea Cobb Vantres 500 de una granja comercial, divididos en dos grupos similares. El Grupo A fue vacunado por la vía aspersión y el Grupo B por la vía agua de bebida. A los 29 días de edad, 50 aves de cada grupo fueron trasladados a un galpón experimental para su desafío con la cepa estándar F52/70. Se evaluaron signos clínicos, lesiones macroscópicas y microscópicas, índice bursal, y respuesta serológica, tanto en las aves desafiadas como en las no desafiadas. Signos leves y de corta duración de depresión y diarrea fueron observados durante tres días en las aves desafiadas de ambos grupos experimentales, lo que demostró la protección conferida por la vacuna. Sin embargo, el grupo vacunado vía agua de bebida presentó mayor número de aves con depresión ( $p < 0.05$ ). No se encontró diferencia estadística entre grupos en los valores de índice bursal, grado de lesión microscópica de la bursa y serología de las aves desafiadas y no desafiadas. Los índices bursales y el grado de lesión microscópica indicaron atrofia bursal para ambas vías de aplicación de la vacuna, lo que demostró similar actividad y grado de replicación del virus vacunal. Se concluye que los métodos de vacunación por aspersión y por agua de bebida pueden ser usados indistintamente contra la Enfermedad Infecciosa de la Bursa.

**Palabras clave:** enfermedad infecciosa de la bursa, índice bursal, vacunación vía aspersión, vacunación vía agua de bebida, atrofia bursal, signos clínicos

#### ABSTRACT

Vaccination against the Infectious Bursal disease via spray and via drinking water was compared in broilers using a vaccine with intermediate strains in a vaccination programme at 7 and 17 days of age. A total of 69 100 Cobb Vantress 500 chicks in a commercial farm were divided in two similar groups. Group A was vaccinated via spray

<sup>1</sup> Laboratorio de Patología Aviar, <sup>2</sup> Laboratorio de Histología, Embriología y Patología Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima

<sup>3</sup> E-mail: eliana.icochea@gmail.com

and group B was vaccinated via drinking water. Then, 50 chicks at 29 days of age from each group were relocated to an experimental farm and challenged with a standard F52/70 strain. Bursal index, macroscopic and microscopic lesions, and serological response were monitored in both challenged and non-challenged birds. Minor clinical signs of short duration, including depressions and diarrhea were observed during three days in challenged birds in both experimental groups showing the level of protection conferred by the vaccine in both groups; however, greater number of birds vaccinated via drinking water showed depression ( $p < 0.05$ ). No statistical differences between challenged and non-challenged groups were found in bursal index, histological bursal lesions, and serology. The bursal indexes and degree of microscopic lesions indicated bursal atrophy for both vaccination routes, showing similar activity and degree of replication of the vaccine virus. It is concluded that vaccination via spray and via drinking water can be used as methods of vaccination against Infectious Bursal disease.

**Key words:** Infectious bursal disease, bursal index, vaccination via spray, vaccination via drinking water, bursal atrophy, clinical signs

## INTRODUCCIÓN

El virus de la Enfermedad Infecciosa de la Bursa (VEIB) está ampliamente diseminado a nivel mundial. Afecta la bursa de Fabricio del ave causando inmunosupresión, incrementando la susceptibilidad a enfermedades secundarias y disminuyendo la productividad, lo cual genera pérdidas económicas importantes en la industria avícola. El virus es muy resistente y sobrevive a la limpieza y desinfección rutinaria, por lo que se requiere vacunar a los lotes comerciales contra esta enfermedad (Lukert y Saif, 2003; Sharma, 2006).

En el Perú, se ha reportado la forma clásica de la Enfermedad Infecciosa de la Bursa (EIB), y por pruebas moleculares se ha demostrado la presencia de cepas variantes que probablemente estén involucradas en casos de inmunosupresión (Falcón, 1998; Jackwood, 2002).

En el país, se aplican dos vacunas vivas entre la segunda y tercera semana de edad, usualmente vía agua de bebida. El principal problema de la aplicación de vacunas por esta vía es la falta de uniformidad de la dosis vacunal, dado la variabilidad individual en el consumo de agua. Además, la calidad de agua

y las deficiencias en la red de distribución afectan la eficacia de la vacunación por esta vía. Asimismo, es difícil tener más de la mitad de las aves ingiriendo una determinada cantidad de agua que contenga la dosis vacunal dentro de las dos horas de administración (Giambrone y Clay, 1986; Bernardino, 2004). Por esto, se requiere buscar formas más efectivas de administrar la vacuna (Butcher y Miles, 1993; De Witt, 2001).

La vacunación vía aspersión viene cobrando importancia debido a su practicidad, facilidad y a la uniformidad en su aplicación (Giambrone, 1986; Bernardino, 2004). El presente estudio tuvo como objetivo comparar la protección conferida por la vacunación vía aspersión frente a la vacunación vía agua de bebida en pollos vacunados con un programa convencional de dos vacunas vivas intermedias contra la EIB.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Lugar y Animales

La crianza de los pollos de carne de la línea Cobb Vantres 500 se realizó en las instalaciones de una empresa privada en la provincia de Huaral, departamento de Lima. El

desafío experimental, las necropsias, la serología y el estudio histopatológico se realizaron utilizando las facilidades de los laboratorios de la Facultad de Medicina Veterinaria (FMV), Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM), Lima.

### **Evaluación Experimental**

La vacunación contra la EIB se hizo con dos vacunas a base de virus vivo modificado. La cepa Lukert, clasificada como una cepa intermedia-intermedia, derivada de una cepa de campo, aplicada a los siete días, y la cepa 2512, considerada como intermedia-fuerte, aplicada a los 17 días de edad.

La dosis vacunal fue aplicada de acuerdo a las recomendaciones del fabricante. La dosis de la vacuna con la cepa Winterfield 2512 fue  $EID_{50} 10^{4.8}$  por 0.5 ml, y la vacuna con la cepa Lukert fue  $\geq 10^{4.3} TCI_{50}$ . Para el desafío se usó la cepa F52/70 con una dosis de 60  $\mu$ l ( $10^4 DIE_{50}$ ), facilitado por Laboratorios Intervet, Holanda.

Se comparó la efectividad de los dos métodos de aplicación de las vacunas por la vía aspersión y por la vía agua de bebida, bajo condiciones de campo (crianza) y de laboratorio (desafío). Para esto, se utilizaron 36 700 hembras y 32 400 machos por cada vía de inoculación. A los 29 días de edad, 50 aves de cada tratamiento fueron trasladadas a la FMV-UNMSM para su desafío con la cepa estándar F52/70. El desafío se hizo a los 30 días de edad por la ruta ocular.

### **Evaluación en Aves Desafiadas**

*Mortalidad y signos clínicos:* Se hizo una observación clínica diaria luego del desafío en busca de signos de depresión, diarrea y mortalidad.

*Lesiones e índice bursal:* A los 3, 7 y 10 días posteriores al desafío se realizó la necropsia a 10 aves por grupo con el fin de evaluar lesiones macroscópicas y microscópicas en bursa, así como para el cálculo del índice bursal.

*Índice bursal:* Se calculó siguiendo la fórmula de Giambone (1982): (peso bursa / peso corporal) x 1000.

*Lesiones microscópicas:* Se hizo un examen histológico de las bursas de Fabricio para determinar el grado de severidad de las lesiones, utilizando la escala de 1 a 4 (Mohamed *et al.*, 1996), para describir el grado de severidad:

- 1: Sin lesiones significativas en el tejido bursal
- 2: Leve reducción de células linfoides en 30 % de los folículos
- 3: Moderada atrofia o reducción de células linfoides en 31-75% de los folículos
- 4: Severa necrosis y atrofia de células linfoides en más del 75% de los folículos

*Evaluación de la respuesta serológica:* A los 3, 7 y 10 días del desafío se colectaron 16 muestras de sangre por grupo para medir los anticuerpos contra el EIBV, usando equipo comercial ELISA de los Laboratorios IDEXX.

### **Evaluación en Aves No Desafiadas**

*Índice bursal y lesiones microscópicas:* A los 30, 33 y 37 días de edad se sacrificaron 20 aves por grupo, para la evaluación del índice bursal, lesiones macroscópicas y lesiones microscópicas.

*Evaluación de la respuesta serológica:* Se colectaron 16 muestras de sangre por grupo a los 30, 33 y 37 días de edad para evaluar la respuesta serológica a la vacunación contra EIB, usando el equipo comercial de ELISA (Laboratorios IDEXX).

### **Análisis Estadístico**

Se analizaron los signos clínicos en las aves desafiadas para comparar la efectividad de la vacuna por las dos vías de aplicación mediante la prueba de Chi cuadrado. Se evaluaron los índices bursales y el nivel de

Cuadro 1. Frecuencia porcentual de animales desafiados que presentaron depresión y diarrea como efecto del desafío con la cepa estándar F52/70

Signo clínico	Grupo <sup>1</sup>	Días post desafío		
		3	4	5
Depresión	A	25.0 <sup>a</sup>	37.5 <sup>a</sup>	27.5 <sup>a</sup>
	B	57.5 <sup>b</sup>	80.0 <sup>b</sup>	75.0 <sup>b</sup>
Diarrea	A	17.5 <sup>a</sup>	30.0 <sup>a</sup>	52.5 <sup>a</sup>
	B	32.5 <sup>a</sup>	45.0 <sup>a</sup>	55.0 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> A: Vacunado contra la Enfermedad Infecciosa de la Bursa vía aspersion; B: vacunado vía agua de bebida

<sup>a,b</sup> Superíndices diferentes entre grupos por día de desafío indican diferencia estadística ( $p < 0.05$ )

Cuadro 2. Índice bursal en animales desafiados y no desafiados con la cepa estándar F52/70

Aves desafiadas	Grupo <sup>1</sup>	Días de edad		
		30	33	37
No	A	0.56	0.51	0.43
	B	0.54	0.50	0.47
Sí <sup>2</sup>	A	0.54	0.45	0.44
	B	0.51	0.41	0.50

<sup>1</sup> A: Vacunado contra la Enfermedad Infecciosa de la Bursa vía aspersion; B: vacunado vía agua de bebida

<sup>2</sup> El desafío se hizo a los 30 días de edad

anticuerpos con la prueba de t de Student independiente, y las lesiones microscópicas con la prueba de KSII.

## RESULTADOS

Los animales desafiados presentaron depresión y diarrea a los 3, 4 y 5 días post desafío (Cuadro 1), sin encontrarse diferencia significativa respecto a la diarrea para los días postdesafío. Sin embargo, se encontraron diferencias estadísticas para la variable depresión, determinándose que los animales

vacunados vía agua de bebida tienen a los 3, 4 y 5 días del desafío 3.4, 6.7 y 7.9 veces mayor probabilidad de manifestar depresión que los animales vacunados vía aspersion, según la prueba de Odds Ratio.

En los dos grupos de aves no desafiadas que se mantuvieron en granja se observó atrofia bursal al día 30 y severa atrofia bursal a los 33 y 37 días de edad; sin embargo, no hubo diferencia estadística para la atrofia bursal entre los grupos en ninguno de los días evaluados. Las bursas de estos animales no mostraron lesiones en las necropsias, observándose integridad en la

Cuadro 3. Lesiones histológicas de la bursa en animales desafiados y no desafiados con la cepa estándar F52/70

Aves desafiadas	Grupo <sup>1</sup>	Días de edad		
		30	33	37
No	A	3.4	3.3	3.3
	B	2.9	2.8	2.9
S <sup>2</sup>	A	3.3	3.3	3.3
	B	3.0	3.1	3.0

<sup>1</sup> A: Vacunado contra la Enfermedad Infecciosa de la Bursa vía aspersión; B: vacunado vía agua de bebida

<sup>2</sup> El desafío se hizo a los 30 días de edad

Cuadro 4. Promedio geométrico del título de anticuerpos contra el virus de la Enfermedad Infecciosa de la Bursa (VEIB) por la prueba de ELISA en animales desafiados y no desafiados con la cepa estándar F52/70

Aves desafiadas	Grupo <sup>1</sup>	Días de edad		
		30	33	37
No	A	2427 <sup>a</sup>	2401 <sup>a</sup>	2438 <sup>a</sup>
	B	1918 <sup>a</sup>	1956 <sup>a</sup>	2201 <sup>a</sup>
S <sup>2</sup>	A	2214 <sup>a</sup>	2644 <sup>a</sup>	2458 <sup>a</sup>
	B	2291 <sup>a</sup>	2897 <sup>a</sup>	2812 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup> Superíndices iguales dentro de grupos por día de edad indican valores sin significancia estadística ( $p > 0.05$ )

<sup>1</sup> A: Vacunado contra la Enfermedad Infecciosa de la Bursa vía aspersión; B: vacunado vía agua de bebida

<sup>2</sup> El desafío se hizo a los 30 días de edad

mucosa y los pliegues bursales. Por otro lado, los animales desafiados mostraron atrofia bursal a los tres días del desafío y severa atrofia bursal a los 7 y 10 días del desafío, sin mostrar diferencia estadística entre el grupo vacunado vía aspersión y vía agua de bebida para ningún día postdesafío. Sin embargo, en el grupo de aves desafiadas se encontraron lesiones macroscópicas bursales consistentes en ligeras hemorragias y edema, aunque ninguna de estas lesiones fue marcada.

Microscópicamente, se observó daño bursal en los grupos de animales desafiados y no desafiados, con grados de lesiones que variaron entre la pérdida de células linfoides en el 30% de folículos (grado 2) y la severa necrosis y atrofia o pérdida de las células linfoides en más del 75% de los folículos bursales (grado 4), pudiéndose observar una atrofia ligeramente mayor en las bursas provenientes de animales vacunados vía aspersión. Sin embargo, no se encontraron dife-

rencias estadísticas entre los dos métodos de vacunación, tanto en las aves desafiadas como en las no desafiadas (Cuadro 3).

Se observó un mejor nivel de respuesta inmunoactiva con la vacunación vía aspersión que por la vía agua de bebida en las aves no desafiadas. Contrariamente, en los grupos desafiados se observó una ligera elevación de títulos de anticuerpos postdesafío en los grupos vacunados vía agua de bebida que en los vacunados vía aspersión. Sin embargo, no existieron diferencias estadísticas en los efectos del desafío por cualquiera de las vías de vacunación utilizadas (Cuadro 4). Además, los coeficientes de variación fueron entre 21 y 36%, lo cual indicó que la vacunación por ambas vías se realizó de manera adecuada y uniforme.

## DISCUSIÓN

La vacunación en pollos de carne contra la EIB es muy importante para la prevención de la enfermedad; sin embargo, en el campo es difícil lograr una protección del 100% de las aves, especialmente debido al manejo de la vacuna en el campo y a la administración masiva de la vacuna vía agua de bebida, la cual en las mejores condiciones alcanza solamente al 80% de la aves (Giambrone, 1995; van den Wijngaard *et al.*, 2001).

Si bien los dos grupos de aves presentaron depresión y diarrea postdesafío, los signos clínicos fueron considerados leves, lo cual indicó la buena protección conferida contra la enfermedad por ambas vías de aplicación. En el grupo de aves vacunado vía agua de bebida no hubo diferencias estadísticas en frecuencia de diarrea, pero se encontró diferencias significativas en términos de depresión ( $p < 0.05$ ). Esto indicaría que ante un desafío de campo, la población de aves vacunadas vía aspersión presentaría el mismo número de aves con diarrea y menor número de aves con depresión que las aves vacunadas vía agua de bebida. Probablemente, los

animales tuvieron una buena integridad intestinal que no permitió el desarrollo exagerado de la diarrea en ninguno de los tratamientos evaluados. Estas manifestaciones clínicas fueron pasajeras y de corta duración, y hasta el momento de la comercialización, no se observaron signos clínicos adicionales.

Las lesiones macroscópicas bursales encontradas, como ligeras hemorragias y edema, en el grupo de aves desafiadas no fueron de consideración, demostrándose por un lado, la actividad de la cepa de desafío, y por el otro, la buena protección vacunal conferida por ambas vías de aplicación. Esto coincide con los resultados encontrados por Banda *et al.* (2005), quienes no encontraron diferencias significativas en el índice bursal entre las aves vacunadas al día y a los 10 días de edad vía agua de bebida y vía aspersión.

Asimismo, Purvis *et al.* (2005) hallaron un menor nivel de atrofia en las bolsas de los animales vacunados vía aspersión que en aquellas de las aves sin vacunar. La atrofia bursal encontrada en el presente estudio se debe a la replicación de los virus vacunales, lo cual confirmaría que la vacuna aplicada, indistintamente de la vía empleada, tiene buena replicación.

Los resultados histológicos coinciden con el tipo de atrofia bursal encontrada en el examen macroscópico. No obstante, en otros estudios (Giambrone y Clay, 1986; Purvis *et al.*, 2005) se determinó que las aves vacunadas vía aspersión tuvieron valores de atrofia menores que las no vacunadas. Asimismo, Banda *et al.* (2005) concluyeron que la vacunación vía aspersión produce menos atrofia que la vacuna vía agua de bebida.

El mismo perfil de respuesta serológica fue observado en los grupos de aves desafiadas, no encontrándose diferencia estadística entre grupos. Estos resultados no coinciden con la investigación realizada por Banda *et al.* (2005), donde observaron mejores niveles de anticuerpos con la prueba de ELISA en animales vacunados vía agua de bebida;

sin embargo, en el estudio de Emikpe (2001) se encontraron mayores títulos de anticuerpos con la prueba de precipitación de agar gel en aves vacunadas por vía parenteral que en vacunadas vía agua de bebida. Pese a esta diferencia, en los tres estudios, incluyendo el presente, se encuentran mejores o iguales índices bursales macro y microscópicos con menor cantidad de signos clínicos en los animales vacunados vía aspersión en comparación con las aves vacunadas vía agua de bebida.

### CONCLUSIONES

- La vacunación contra la enfermedad de Gumboro vía aspersión demostró una ligera ventaja ante la vacunación vía agua de bebida, al presentar un menor nivel de depresión ( $p < 0.05$ ) después del desafío con la cepa F52/70.
- La vacunación por ambas vías de aplicación presentó índice bursal, lesiones microscópicas y respuesta serológica similares, concluyéndose que ambas vías pueden ser indistintamente utilizadas en la vacunación contra la Enfermedad de Gumboro.

### LITERATURA CITADA

1. **Banda A, Villegas P, Perozo F. 2005.** Evaluation of the protection conferred by coarse spray vaccination against infectious bursal disease in commercial broilers. In: XLII AVMA Annual Convention. Minneapolis, USA. p 59.
2. **Bernardino A. 2004.** Programas de vacinacao. En Mendes AA, de Alentar I, Macari M. Producao de frangos de corte. Brasil: Ed Facta. p 179-199.
3. **Butcher G, Miles R. 1993.** Prevención y control de Gumboro. *Industria Avícola* 40(7): 8-10.
4. **De Witt JJ. 2001.** Gumboro disease: estimation of optimal time of vaccination by the Deventer formula. III Meeting of Cost Action 839. Pulawy, Poland.
5. **Emikpe BO, Akpavie SO, Adene DF. 2001.** Influence of parenteral route on oral route of local IBD vaccine administration in the responses of broiler chicks. *Rev Elev Méd Vét Pay* 54: 213-216.
6. **Falcón R. 1998.** Brote de la enfermedad de Gumboro en aves de postura comercial. *Rev Inv Pec, IVITA* 9(1): 81-84.
7. **Giambrone JJ, Clay RP. 1986.** Efficacy of coarse spray administration of commercial intermediate infectious bursal disease vaccines. *Poultry Sci* 65: 807-809.
8. **Giambrone JJ. 1995.** Broiler vaccination-additional protection is often needed. In: Summit on infectious bursal disease. International Poultry Symposium. Georgia, USA. p 17-20.
9. **Jackwood D. 2002.** Enfermedad infecciosa de la bolsa: situación mundial. En: X Seminario Internacional de Patología y Producción Aviar. USA: Universidad de Georgia. p 1-6.
10. **Lukert P, Saif V. 2003.** Infectious bursal disease. In: Saif VM (ed). *Diseases of poultry*. 11<sup>th</sup> ed. USA: Iowa State Press. p 161-179.
11. **Mohamed K, Al Natour M, Ward L, Saif Y. 1996.** Pathogenicity, attenuation, and immunogenicity of infectious bursal disease virus. *Avian Dis* 40: 567-571.
12. **Purvis L, Villegas P, Banda A. 2005.** Comparison of two spray vaccination methods against infection bursal disease virus in broilers. XLII AVMA Annual Convention. Minneapolis, USA. p 70.
13. **Sharma JM. 2006.** Mechanisms of infectious bursal disease virus-induced immunosuppression. In: Symposium on Impact of Subclinical Immunosuppression on Poultry Production. Hawaii: AAAP.
14. **van den Wijngaard JK, Avakian A, Craig W, Eid H. 2001.** La vacunación *in ovo* contra la EIB sobrepasa el enfoque convencional. *World Poultry* 14: 13-15.