

Evaluación de Tres Programas de Vacunación Contra Laringotraqueítis Infecciosa Aviar Usando Dos Vacunas Vectorizadas Comerciales en Pollos de Engorde

EVALUATION OF THREE AVIAN INFECTIOUS LARYNGOTRACHEITIS VACCINATION PROGRAMMES USING TWO COMMERCIAL VECTORIZED VACCINES IN BROILERS

Silvia Charca P.^{1,3}, Eliana Icochea D'A.^{1,4}, Rosa González V.¹, Rosa Perales C.², Viviana San Martín D.¹, Nelly Cribillero C.¹, Pablo Reyna S.¹

RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar la protección conferida por tres programas de vacunación contra laringotraqueítis infecciosa (LTI) en pollos de engorde usando dos vacunas comerciales recombinantes (vectorizadas). Se utilizaron 288 pollos machos de la línea Ross 308 de 1 día de edad, distribuidos en cuatro grupos de 72, con tres repeticiones de 24 aves por grupo. El grupo A fue vacunado al 1^{er} día de edad por vía subcutánea con la vacuna recombinante comercial del virus de viruela aviar que expresa el gen de la glicoproteína B del virus de laringotraqueítis infecciosa aviar (VLTI); el grupo B fue vacunado el día 14 con una vacuna inactivada por vía subcutánea y con la vacuna del grupo A aplicada por punción alar; el grupo C fue vacunado el día 1 de edad por vía subcutánea con una vacuna recombinante comercial de herpesvirus de pavo (HVT) asociado a células que expresa los genes de las glicoproteínas I y D del VLTI; y el grupo D no fue vacunado. Todas las aves fueron desafiadas con una cepa del VLTI con un título de 10^7 DIE₅₀ el día 35 de edad. Las aves control presentaron mayor severidad de signos respiratorios en el día 6 posdesafío que las vacunadas ($p < 0.05$). Las lesiones histopatológicas variaron entre grupos, siendo el grupo C el que tuvo la más rápida recuperación ($p < 0.05$). Los parámetros productivos (peso corporal, índice de conversión alimenticia e índice de eficiencia productivo europeo) no mostraron diferencias estadísticas entre grupos. La mejor protección contra LTI se obtuvo con la vacuna recombinante HVT, no habiendo diferencia estadística en la respuesta productiva entre los cuatro tratamientos.

Palabras clave: laringotraqueítis, vacunación, recombinante

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

³ E-mail: silvia.charca.padilla@gmail.com

⁴ E-mail: eliana.icochea@gmail.com

Recibido: 12 de octubre de 2014

Aceptado para publicación: 11 de junio de 2015

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the protection of three immunization programmes against infectious laryngotracheitis (ILT) in broilers using two recombinant commercial vaccines. A total of 288 1-day-old Ross-308-line male birds were distributed in four experimental groups of 72 animals with three replicates of 24 birds per group. Group A was subcutaneously vaccinated at 1 day of age with a commercial recombinant fowlpox virus (FPV)-vectored vaccine expressing ILT virus (ILTV) glycoprotein B gene; Group B was vaccinated at day 14 of age with an inactivated vaccine by subcutaneous route and with the vaccine of Group A but applied via wing-web puncture; Group C was subcutaneously vaccinated at 1 day of age with HVT recombinant commercial vaccine expressing genes encoding for ILTV glycoproteins I and D; and Group D remained unvaccinated. All birds were challenged with ILTV pathogenic strain with 10^7 DIE₅₀ at 35 days of age. Unvaccinated chicks showed higher degree of respiratory signs on day 6 post challenge than the vaccinated ones ($p < 0.05$). Microscopic lesions varied between groups, but group C presented a faster recovery ($p < 0.05$). Production parameters (body weight, feed conversion index, and European productive efficiency index) showed no significant difference between groups. The best protection against ILT was obtained in birds vaccinated with the HVT recombinant vaccine; however, no difference in productive performance was found between treatments.

Key words: laryngotracheitis, vaccination, recombinant

INTRODUCCIÓN

La laringotraqueítis infecciosa aviar (LTI) es causada por el herpesvirus tipo 1 de las aves que afecta el tracto respiratorio alto. Entre los signos clínicos causados por la enfermedad se incluyen conjuntivitis, descarga nasal, estornudos, ronquera, disnea y depresión; los cuales pueden ser desde muy severos y con alta mortalidad por asfixia debido al exudado fibrino-hemorrágico presente en el lumen de la tráquea (Sellers *et al.*, 2004), a una forma muy leve, no diferenciable de otras enfermedades respiratorias de pollos, denominada laringotraqueítis infecciosa «silenciosa, vacunal u ojos en forma de almendra» (Ou y Giambrone, 2012). El órgano blanco del virus es la tráquea (Ou y Giambrone, 2012).

La LTI ha sido reportada en muchos países, siendo considerada principalmente

como endemia en regiones de crianza intensiva, en aves de múltiples edades y alojadas en galpones con alta densidad poblacional (Parra *et al.*, 2015). En el Perú fue reportada por primera vez en agosto de 2008 (OIE, 2008). Como consecuencia de ello, se implementaron medidas de control como la inmunización mediante el uso de vacunas recombinantes (vectorizadas) (El Peruano, 2008) e inactivadas (OIE, 2009).

En el Perú existen pocos estudios sobre la protección conferida por vacunas recombinantes e inactivadas, aplicadas ya sea individualmente o en combinación, en pollos de engorde. El objetivo de la presente investigación fue comparar la protección conferida por tres programas de vacunación contra LTI usando vacunas vectorizadas, mediante la evaluación de la mortalidad, signos clínicos, lesiones macroscópicas e histopatológicas, respuesta serológica y parámetros productivos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de Estudio

La crianza, vacunación y desafío experimental de las aves se llevó a cabo en los módulos de experimentación del Laboratorio de Patología Aviar, así como las necropsias y pruebas serológicas, en tanto que los exámenes histopatológicos se hicieron en el Laboratorio de Patología Veterinaria, ambos pertenecientes a la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos (FMV-UNMSM), en Lima, Perú. El estudio se realizó entre julio y agosto de 2011.

Aves y Diseño Experimental

Se utilizaron 288 pollos BB machos de un día de edad, de la línea Ross 308, procedentes de un mismo lote de reproductoras. Los pollos fueron distribuidos al azar en cuatro grupos de 72 aves con tres repeticiones (24 aves por repetición por grupo).

Los tratamientos, según las vacunas aplicadas, fueron los siguientes:

- Grupo A: Vacuna recombinante del virus de viruela aviar (DVA), que expresa el gen de la glicoproteína B del virus de LTI, aplicada al 1^{er} día de edad por vía subcutánea.
- Grupo B: Vacuna inactivada emulsionada en aceite mineral, vía subcutánea, y la vacuna DVA del grupo A, pero por punción alar, ambas aplicadas a los 14 días de edad.
- Grupo C: Vacuna recombinante de herpesvirus de pavo (HVT) asociado a células que expresan los genes de las glicoproteínas I y D del virus de LTI, aplicada al 1^{er} día de edad, vía subcutánea.
- Grupo D: Sin vacuna (control).

Las aves, además, fueron vacunadas en la planta de incubación contra la enfermedad

de Newcastle (cepa B1) y la bronquitis infecciosa (cepa H120) por vía de aspersión y contra la enfermedad de Marek (cepa HVT) vía subcutánea. El grupo C no recibió esta última vacuna.

Las aves se encontraban bajo un sistema de aislamiento completo (evitando el ingreso de aves ajenas al estudio) y ambiente controlado. Dentro del módulo de crianza, las aves estuvieron separadas de acuerdo a cada repetición por grupo, haciendo un total de 12 corrales contiguos pero separados por mallas metálicas. La alimentación fue *ad libitum* con un concentrado de fórmula comercial, de acuerdo a la etapa de crianza.

Desafío Viral

Las aves fueron desafiadas a los 35 días de edad con 0.3 ml de un inóculo que contenía un virus patógeno de ILT aislado de un brote de campo en aves de postura y con un título de 10^7 DIE₅₀. El desafío se realizó vía intratraqueal (0.2 ml) y vía ocular (0.1 ml).

Parámetros de Evaluación

El nivel de protección se determinó mediante mortalidad, signos clínicos (respiratorios, conjuntivitis y depresión), lesiones macroscópicas e histopatológicas traqueales, respuesta serológica y parámetros productivos (peso corporal, índice de conversión alimenticia [ICA] e índice de eficiencia productivo europeo [IEPE]).

La mortalidad se registró diariamente en cada grupo. El examen clínico en cada ave se realizó en forma diaria determinándose el inicio, presentación, severidad y desarrollo de los signos clínicos posdesafío. Se emplearon cuatro grados de severidad (0-3) en la evaluación de los signos respiratorios y tres grados para conjuntivitis (0-2) (adaptados de Devlin *et al.*, 2008), en tanto que se emplearon tres grados (0-2) para evaluar la depresión (Devlin *et al.*, 2006).

Las lesiones en tráquea se evaluaron a partir del sacrificio de cinco aves por grupo a los 5, 7, 9, 11 y 13 días del desafío. Las lesiones macroscópicas se evaluaron en base a cinco grados (0-4) (Devlin *et al.*, 2007). Para la evaluación microscópica, se emplearon seis grados (0-5) (Guy *et al.*, 1990) en muestras de cada una de las tráqueas de las aves sacrificadas, que fueron fijadas en formol al 10%.

La respuesta serológica se evaluó a partir de la toma de muestra de sangre a 20 aves de cada grupo antes (35 días de edad) y 15 días después del desafío (50 días de edad), mediante la punción de la vena alar. Se determinó la respuesta de anticuerpos contra el virus de LTI por la prueba de ELISA indirecta usando un kit comercial (Synbiotics ProFlock® LT, San Diego, California, EEUU).

El peso se registró por ave en forma semanal, empleando una balanza digital de 15 kg de capacidad y de 1 g de precisión. El ICA se evaluó cada semana posterior al desafío y El IEPE solo se evaluó a los 49 días de edad (14 días posdesafío). El ICA fue el resultado del alimento consumido dividido por el peso vivo, en tanto que para el IEPE se usó la siguiente fórmula: $(\text{Viabilidad} \times \text{Peso vivo (kg)} / \text{Edad (días)} \times \text{ICA}) \times 100$.

Análisis Estadístico

Los signos clínicos y las lesiones macroscópicas e histopatológicas (categorizadas en grados de lesión) se analizaron mediante la prueba de Kruskal Wallis, y para determinar diferencias entre grupos se empleó la prueba de Kruskal Wallis de dos vías. La prueba de Chi cuadrado se utilizó para determinar la asociación entre tratamientos y grados, cuando las variables (signos clínicos y lesiones macroscópicas e histopatológicas) presentaban hasta 3 grados de severidad (0, 1 y 2). Los resultados fueron analizados con un nivel de confianza del 95%.

La evaluación del peso corporal, ICA e IEPE se realizó mediante un análisis de varianza, y el análisis pos-estimación (en función de $p < 0.05$), mediante la prueba de comparación múltiple de medias de Bonferroni.

El análisis de los datos se realizó aplicando el paquete estadístico STATA 10.

RESULTADOS

La mortalidad acumulada a los 14 días del desafío fue de 0, 1.4, 2.8 y 2.8% para los grupos A, B, C y D, respectivamente. Las lesiones observadas en la necropsia de las aves muertas posdesafío no fueron características de LTI, siendo compatibles con muerte súbita (muerte de aves en buena condición, con lesiones congestivas en hígado, riñones, bazo, y leve edema en pulmones); sin embargo, las aves del grupo D presentaron material caseoso en pleura y pulmones.

Previo al desafío, las aves no mostraron signos clínicos. Luego del desafío, el principal signo clínico fue la ronquera, que se manifestó a partir del día 2, donde las aves del grupo C mostraron tendencias hacia los signos más leves y las aves del grupo D (control) mostraron tendencias a presentar el mayor grado promedio. Asimismo, el día 6 del desafío, el grupo control presentó signos respiratorios más severos que los otros grupos ($p < 0.05$). Por otro lado, no se encontraron diferencias estadísticas entre grupos en relación a la sintomatología respiratoria en los días 4, 8, 10, 12 y 14 del desafío (Cuadro 1).

Las aves de los grupos C y D presentaron tendencias a un menor y mayor grado promedio de conjuntivitis, respectivamente ($p < 0.05$), los días 6 y 8 posdesafío, mientras que no hubo diferencias estadísticas entre grupos los días 2, 4, 10, 12 y 14 posdesafío (Cuadro 2).

Cuadro 1. Promedio del grado (0-3) de signos respiratorios en pollos de engorde vacunados contra laringotraqueítis infecciosa (LTI) y desafiados experimentalmente a los 35 días de edad

Grupos ¹	Días posdesafío						
	2	4	6	8	10	12	14
A	0.44	1.45	0.51 ^a	0.25	0.02	0.00	0.00
B	0.46	1.60	0.73 ^a	0.45	0.16	0.04	0.00
C	0.36	1.57	0.52 ^a	0.51	0.31	0.07	0.00
D	0.68	1.65	1.32 ^b	0.68	0.25	0.00	0.00

¹ A: Vacuna recombinante del virus de viruela aviar (DVA) por vía subcutánea; B: Vacuna inactivada por vía subcutánea y la vacuna DVA del grupo A aplicada por punción alar; C: Vacuna recombinante de herpesvirus de pavo (HVT) por vía subcutánea; D: control

^{a,b,c} Superíndices diferentes dentro de la columna indican diferencia estadística ($p < 0.05$). En el día 2 posdesafío se determinó diferencia estadística ($p < 0.05$) por la prueba de Chi cuadrado

Cuadro 2. Promedio del grado (0-2) de conjuntivitis en pollos de engorde vacunados contra laringotraqueítis infecciosa (LTI) y desafiados experimentalmente a los 35 días de edad

Grupos ¹	Días posdesafío						
	2	4	6	8	10	12	14
A	0.06	1.14	0.21	0.21	0.00	0.00	0.00
B	0.11	1.19	0.35	0.23	0.00	0.02	0.00
C	0.06	1.18	0.15	0.04	0.00	0.00	0.00
D	0.15	1.17	0.61	0.35	0.00	0.00	0.00

En el día 2 posdesafío se determinó diferencia estadística ($p < 0.05$) por la prueba de Chi cuadrado

¹ A: Vacuna recombinante del virus de viruela aviar (DVA) por vía subcutánea; B: Vacuna inactivada por vía subcutánea y la vacuna DVA del grupo A aplicada por punción alar; C: Vacuna recombinante de herpesvirus de pavo (HVT) por vía subcutánea; D: control

Solo las aves de los grupos C y D mostraron depresión, siendo más severa en algunas aves del grupo D, aunque sin diferencias estadísticas entre tratamientos. La presencia de lesiones macroscópicas en tráquea (hemorragia petequial, sangre y mucosidad) fue estadísticamente similar entre tratamientos.

Los cuatro grupos de aves presentaron lesiones histopatológicas a partir del día 5 del desafío. Las tendencias en mayor grado de lesiones traqueales se observaron en los gru-

pos B y D en el día 9 posdesafío y en los grupos A y B en el día 11 posdesafío; asimismo, la tendencia hacia el menor grado de lesiones ocurrió en el grupo C en el día 11 posdesafío. Por otro lado, en los días 5, 7 y 13 posdesafío no se encontraron diferencias estadísticas entre grupos (Cuadro 3). La infiltración mononuclear fue de forma difusa; sin embargo, en algunas tráqueas se presentaron, además, algunas zonas a manera de folículos, que en los casos con grado 2 eran menores que aquellos en casos con grado 3,

Cuadro 3. Promedio del grado de lesiones histopatológicas (0-5) en tráquea en pollos de engorde vacunados contra laringotraqueítis infecciosa y desafiados a los 35 días de edad

Grupos ¹	Días posdesafío				
	5	7	9	11	13
A	3.0	3.0	2.0	3.0	2.6
B	3.0	3.0	3.0	3.0	2.0
C	3.0	3.0	2.2	2.0	2.0
D	3.0	3.0	3.0	2.4	2.4

En los días 9 y 11 posdesafío se determinaron diferencias estadísticas ($p < 0.05$) por la prueba de Chi cuadrado

¹ A: Vacuna recombinante del virus de viruela aviar (DVA); por vía subcutánea; B: Vacuna inactivada por vía subcutánea y la vacuna DVA del grupo A aplicada por punción alar; C: Vacuna recombinante de herpesvirus de pavo (HVT) por vía subcutánea; D: control

donde algunos folículos llegaron a deformar la mucosa traqueal. El grupo C presentó menor tamaño y cantidad de folículos linfoides respecto de los otros grupos. No obstante, en ningún momento se hallaron corpúsculos de inclusión ni sincitios.

Los promedios geométricos de títulos de anticuerpos previos al desafío fueron de bajo nivel en los cuatro grupos de aves, siendo más altos en las aves del grupo B. Sin embargo, 15 días después del desafío, los grupos A y B presentaron una clara seroconversión con títulos aritméticos promedio de 2910 y 1960, respectivamente (Cuadro 4).

El comportamiento productivo de las aves en términos de peso vivo fue estadísticamente similar entre grupos. La ganancia de peso a la semana 7 varió entre 1536 y 1643 g, el ICA varió entre 2.36 y 2.53, y el IEPE varió entre 430.6 y 493.3. Los resultados del IEPE a los 14 días del desafío para los tratamientos A, B, C y D fueron de 455.93, 471.84, 493.30 y 430.61, respectivamente

DISCUSIÓN

La presentación de signos respiratorios y conjuntivitis fue inicialmente menor en el grupo C y mayor en el grupo D (Control); no obstante, a partir del día 10 del desafío los signos clínicos fueron mínimos o no detectables en todos los grupos. Asimismo, el grado de conjuntivitis solo varió entre grupos en los días 6 y 8 posdesafío con tenden-

Cuadro 4. Respuesta serológica antes del desafío (35 días de edad) y 15 días posteriores al desafío (50 días de edad) de pollos de engorde vacunados contra laringotraqueítis infecciosa

Grupos ¹	35 días (predesafío)		50 días (15 días posdesafío)	
	PAT ²	PGT ³	PAT	PGT
A	60	6	2910	2800
B	762	17	1960	600
C	0	0	217	10
D	58	2	490	124

¹ A: Vacuna recombinante del virus de viruela aviar (DVA); B: Vacuna inactivada y la vacuna DVA del grupo A; C: Vacuna recombinante de herpesvirus de pavo (HVT); D: control

² Promedio aritmético y ³ promedio geométrico del título de anticuerpos contra el VLT

cias hacia menores grados en el grupo C y hacia mayores en el grupo control (grupo D). Si bien no se hallaron diferencias entre grupos en lesiones traqueales macroscópicas, se debe mencionar que no solo se observó exudado mucoso y hemorrágico como respuesta al desafío viral, descrito por Devlin *et al.* (2007), sino que, además, algunas tráqueas presentaron hemorragias petequiales con o sin congestión.

Los cuatro grupos presentaron lesiones histopatológicas en tráquea de grado muy variable, con tendencias en mayor grado en los grupos B y D en el día 9 y en los grupos A y B en el día 11 posdesafío. En el día 11, el grupo C presentó el menor grado de lesiones.

A pesar que en el día 9 el grupo A presentó un grado bajo de lesiones, el nivel se elevó en el día 11, lo que estaría indicando que la recuperación en esas aves no fue sostenida. En cambio, el grupo C, que presentó un grado bajo de lesiones desde el día 9, mostró una recuperación sostenida en el tiempo. Además, este grupo presentó menor tamaño y cantidad de infiltración mononuclear a manera de folículos linfoides. Esto indicaría que las lesiones histopatológicas en el grupo C estarían más relacionadas a la inmunidad protectora vacunal que aparentemente impidió que la cepa de desafío replicara menos que en los otros grupos vacunales, reflejándose en un menor grado de signos respiratorios y de conjuntivitis. Estudios similares reportaron que existe menor desarrollo de los folículos secundarios en tráqueas con menor estímulo antigénico (Reese *et al.*, 2006) y que menores lesiones histopatológicas traqueales podrían estar asociadas a menores tasas de replicación del VLT (Kirkpatrick *et al.*, 2006).

Las lesiones observadas en la necropsia indicarían que las aves del grupo control presentaron complicaciones secundarias por *E. coli* como consecuencia del daño causa-

do por el virus de desafío, tal como ha sido señalado por Bagust y Johnson (1995).

Respecto a los resultados serológicos, las aves que recibieron la vacuna recombinante en vector DVA (grupos A y B) mostraron los más altos títulos de anticuerpos, mientras que las aves control y las aves vacunadas con la vacuna recombinante en vector HVT (grupo C) mostraron una débil o negativa respuesta inmune activa. Estos resultados indican que la vacuna recombinante en vector DVA induce una respuesta de anticuerpos detectable por la prueba de ELISA empleada a diferencia de la vacuna recombinante en vector HVT. Asimismo, Tong *et al.* (2001) detectaron una respuesta de anticuerpos por la prueba de ELISA en aves vacunadas con una vacuna recombinante DVA/LTI similar a la del presente estudio. Los resultados demuestran también una lenta seroconversión en pollos de engorde después de un reto experimental.

Se ha señalado que una posible razón por la que las vacunas recombinantes de DVA/LTI no inducen muy buena protección contra LTI, es la presencia de anticuerpos maternos en pollos muy jóvenes que proceden de reproductoras vacunadas contra DVA como parte de su programa de vacunación habitual (Vagnozzi *et al.*, 2012). Las aves de los grupos A y B del presente estudio fueron vacunadas en el día 1 (grupo A) y el día 14 (grupo B) con la vacuna recombinante DVA/LTI. Estudios similares indican que esta vacuna genera adecuada protección en aves reproductoras ligeras, cuando se administra a la semana 10 de edad y el reto ocurre entre la semana 20 y 45 de la vacunación, pudiéndose deducir que la vacuna induce adecuada protección cuando se aplica luego que los anticuerpos maternos contra el virus de viruela desaparecen y que el vector de la vacuna recombinante alcanza adecuada protección al cabo de varias semanas antes que ocurra el desafío (Higuera *et al.*, 2011).

CONCLUSIONES

- Se obtuvo una mayor protección inmune en pollos de engorde contra la laringotraqueítis infecciosa (LTI) frente a un desafío con una cepa patógena (10^7 DIE₅₀), a través de la vacuna recombinante HVT/LTI aplicada al primer día de edad.
- La respuesta productiva fue estadísticamente similar en aves vacunadas contra LTI con una vacuna recombinante en vector DVA o con una vacuna recombinante en vector HVT. Asimismo, estas respuestas fueron similares al grupo de aves control (no vacunadas contra LTI).
- La vacuna recombinante DVA/LTI indujo una respuesta de anticuerpos detectable por la prueba de ELISA, no así la vacuna recombinante en vector HVT.

LITERATURA CITADA

1. **Bagust TJ, Johnson MA. 1995.** Avian infectious laryngotracheitis: virus-host interactions in relation to prospects for eradication. *Avian Pathol* 24: 373-391. doi: 10.1080/03079459508419079
2. **Devlin JM, Browning GF, Hartley CA, Kirkpatrick NC, Mahmoudian A, Noormohammadi AH, Gilkerson JR. 2006.** Glycoprotein G is a virulence factor in infectious laryngotracheitis virus. *J Gen Virol* 87: 2839-2847. doi: 10.1099/vir.0.82194-0
3. **Devlin JM, Browning GF, Hartley CA, Gilkerson JR. 2007.** Glycoprotein G deficient infectious laryngotracheitis virus is a candidate attenuated vaccine. *Vaccine* 25: 3561-3566. doi: 10.1016/j.vaccine.2007.01.080
4. **Devlin JM, Browning GF, Gilkerson JR, Fenton SP, Hartley CA. 2008.** Comparison of the safety and protective efficacy of vaccination with glycoprotein-G-deficient infectious laryngotracheitis virus delivered via eye-drop, drinking water or aerosol. *Avian Pathol* 37: 83-88. doi: 10.1080/03079450701802214
5. **El Peruano, Diario Oficial. 2008.** Año XXV- N.º 10440. Normas legales. Plan para la prevención, control y erradicación de la laringotraqueítis infecciosa aviar en el Perú. Artículo 4 de la Resolución Jefatural 386-2008. [Internet]. Disponible en: <http://spij.minjus.gob.pe/Normas/textos/031208T.pdf>
6. **Guy JS, Barnes HJ, Morgan LM. 1990.** Virulence of infectious laryngotracheitis viruses: comparison of modified-live vaccine viruses and North Carolina field isolates. *Avian Dis* 34: 106-113.
7. **Higuera S, Lechuga M, Mercado G. 2011.** Estudio para la valoración de la protección generada a diferentes edades con una vacuna vectorizada contra el virus de la laringotraqueítis infecciosa en gallinas criadas en granja y desafiadas en laboratorio. [Internet], [4 setiembre 2013]. Disponible en: <http://www.engormix.com/MA-avicultura/sanidad/articulos/vacuna-vectorizada-t3544/165-p0.htm>
8. **Kirkpatrick NC, Mahmoudian A, Colson CA, Devlin JM, Noormohammadi AH. 2006.** Relationship between mortality, clinical signs and tracheal pathology in infectious laryngotracheitis. *Avian Pathol* 35: 449-453. doi: 10.1080/03079450601028803
9. **[OIE] World Organisation for Animal Health. 2008.** Avian infectious laryngotracheitis, Peru. [Internet] Available in: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?reportid=7382
10. **[OIE] World Organisation for Animal Health. 2009.** Avian infectious laryngotracheitis, Peru. [Internet]. Available in: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page_refer=MapFullEventReport&reportid=8046

- 11. Ou SC, Giambone JJ. 2012.** Infectious laryngotracheitis virus in chickens. *World J Virol* 1: 142-149. doi: 10.5501/wjv.v1.i5.142
- 12. Parra SHS, Nuñez LFN, Astolfi-Ferreira CS, Ferreira JP. 2015.** Occurrence of infectious laryngotracheitis virus (ILTV) in 2009-2013 in the State of São Paulo-Brazil. *Rev Bras Cienc Avícola* 17: 117-120. doi: 10.1590/1516-635x1701117-120
- 13. Reese S, Dalamani G, Kaspers B. 2006.** The avian lung-associated immune system: a review. *Vet Res* 37: 311-324. doi: 10.1051/vetres:2006003
- 14. Sellers HS, García M, Glisson JR, Brown TP, Sander JS, Guy JS. 2004.** Mild infectious laryngotracheitis in broilers in the southeast. *Avian Dis* 48: 430-436. doi: 10.1637/7129
- 15. Tong GZ, Zhang SJ, Wang L, Qiu HJ, Wang YF, Wang M. 2001.** Protection of chickens from infectious laryngotracheitis with a recombinant fowlpox virus expressing glycoprotein B of infectious laryngotracheitis virus. *Avian Pathol* 30: 143-148. doi: 10.1080/03079450120044542
- 16. Vagnozzi A, Zavala G, Riblet SM, Mundt A, García M. 2012.** Protection induced by commercially available live-attenuated and recombinant viral vector vaccines against infectious laryngotracheitis virus in broiler chickens. *Avian Pathol* 41: 21-31. doi: 10.1080/03079457.2011.631983