

## Distribución y persistencia de tres cepas de virus bronquitis infecciosa (VBI) en tejidos de pollos libres de patógenos específicos (SPF)

### Distribution and persistence of three strains infectious bronchitis virus (VBI) in tissues of specific pathogen free chicks

J. ULLOA, M. V., Dr. med. vet.; M. SCHWARTZ, M. V.; A. PINO, M. V.; G. JARA, M. Sc.

Instituto de Patología Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile.

#### SUMMARY

The distribution and persistence of three field strains of the IB virus (Austral 3, 5 and 14), on experimentally inoculated SPF chicken was studied. In order to determine its distribution, three groups of 30 chicks that were each two-weeks old, were inoculated by ocular and nasal instillation with  $10^4$  EID<sub>50</sub>/0.1 ml of each strain. Three chicks of each group were slaughtered before and after the infection (every 8 hours until the second day post infection and every 12 hours until the fourth day), collecting samples of trachea, lung, proventriculus, gall bladder, small intestine, large intestine, kidney, thymus and Fabricius bursa. On every sampling, tissues of the same kind were grouped and homogenized, later, PBS with antibiotic was added in a 5% weight/volume relationship. The recovery of the strains were performed on SPF embryonated eggs and tracheal rings, and their results were expressed as isolation index.

The study of persistence of the virus in tissues was performed in three groups of 21 chicks that were each two-weeks old. Every group was infected with  $10^5$  EID<sub>50</sub>/0.1 ml of viral suspension through ocular, nasal and tracheal instillation on days 7, 12, 19, 26, 33, 40 and 47. After the inoculation tracheal, lung, proventriculus, small intestine, large intestine and kidneys samples were collected, and its isolation on embryonated eggs and tracheal rings was initiated.

On the first trial, the strains were recovered from both biological substratum of the nine tissues examined throughout the whole experiment; although they were not recovered from 100% of the samples. The largest isolation indexes were obtained from the tracheal suspension, lung, proventriculus, kidney and large intestine. In some tissues the frequency of isolations of the strains in the first passage was higher in the tracheal rings. There were no major differences in the persistence of the strains on the different tissues, only a longer permanence on the large intestine and kidneys was observed (19 and 47 days respectively).

*Palabras claves:* Bronquitis infecciosa, distribución y persistencia en tejidos.

*Key words:* Infectious bronchitis, distribution and persistence in tissues.

#### INTRODUCCION

Bronquitis infecciosa (BI) es una enfermedad viral de los pollos, de curso agudo, altamente contagiosa, que afecta el sistema respiratorio, oviducto y ocasionalmente riñones, caracterizándose

principalmente por la presencia de signos respiratorios, disminución de la producción, deterioro de la calidad de huevos y en pollos afectados por cepas nefropatogénicas, diarrea y mortalidad (Cavanagh y Naqui, 1997). La enfermedad es considerada de gran importancia económica, especialmente en áreas geográficas de alta concentración avícola.

En Chile, la primera descripción de BI fue realizada por García y Norambuena (1969),

aislándose el virus de broilers, en la década de los setenta (Hidalgo y col., 1976), posteriormente se han realizado numerosos aislamientos de cepas de patogenicidad variable, entre las que se incluyen algunas con características nefropatogénicas (Gallardo y Olivares, 1984; Hidalgo y col., 1986).

En la década de los ochenta, un aumento de brotes de BI, que afectaron a grupos de aves de diferentes edades y en ocasiones vacunadas con cepas tipo Massachusetts, motivó el desarrollo de investigaciones en esta área. Un estudio prospectivo, realizado en aves de carne y de postura, permitió el aislamiento de 9 cepas, cinco con estrecho parentesco antigénico con el serotipo Massachusetts y cuatro clasificadas como "variantes" (Austral 3, 5, 12 y 14). Estas cepas, por sueroneutralización cruzada en huevos embrionados y en anillos traqueales, se diferenciaron de más de 30 cepas reconocidas en el ámbito mundial (Ulloa y col., 1990; Cubillos y col., 1991).

En el presente trabajo, con la finalidad de contribuir a la caracterización de las cepas Austral 3, 5 y 14, se estudió su distribución y persistencia en tejidos de pollos libres de patógenos especificados (LPE) infectados experimentalmente.

## MATERIAL Y METODOS

*Distribución de cepas virus BI en tejidos de pollos SPF.* En la experiencia se utilizaron tres grupos de 30 pollos SPF, tipo Leghorn, de 2 semanas de edad, sin sexar, criados en unidades de aislamiento con aire filtrado y presión negativa. Las aves de cada grupo se infectaron por instilación ocular y nasal con  $10^4$  DIE<sub>50</sub>/0.1 ml de la suspensión viral correspondiente (Austral 3, 5 y 14).

Previo a la infección, se sacrificaron 3 pollos por grupo, obteniéndose muestras controles de tráquea, pulmón, timo, proventrículo, vesícula biliar, intestinos delgado (asa duodenal), intestino grueso (recto y ciegos), riñones y bolsa de Fabricio. Un muestreo similar se realizó posterior a la infección, cada 8 horas hasta el segundo día (8, 16, 24, 32 y 40 horas) y cada 12 horas hasta

el cuarto día (52, 64, 76 y 88 horas). En cada uno de los muestreos, tejidos iguales provenientes de 3 pollos, se agruparon y homogeneizaron, diluyéndose al 5% peso/volumen, en PBS pH 7.5, adicionado con antibióticos.

La recuperación de las cepas de cada suspensión de tejidos se realizó en 5 huevos embrionados SPF (de 9 días de incubación), inoculados vía saco alantoideo y en 5 anillos traqueales obtenidos de pollitos SPF de un día de edad. El intento de aislamiento en huevos embrionados se consideró negativo, si posterior a un tercer pasaje seriado no se presentaban efectos de infecciosidad viral, característicos de virus BI. En anillos traqueales se realizó sólo un pasaje y la presencia de actividad viral se evidenció por la presencia de cilioestasis entre el segundo y cuarto día posterior a la inoculación.

Los resultados se expresaron en índices de aislamiento (IA). Para su determinación, a los aislamientos realizados en un primer, segundo o tercer pasaje en huevos embrionados se les asignaron los puntajes 3, 2 y 1, respectivamente. En anillos traqueales, se asignó el puntaje máximo 3, a la recuperación en un primer pasaje. Para el cálculo de los IA de cada cepa, en los diferentes tejidos y tiempos de muestreo considerados en el estudio, se sumaron los puntajes asignados al pasaje en que se realizó el aislamiento (Lucio y Fabricant, 1990). Además, se calcularon los IA acumulados de las tres cepas por cada tejido, en ambos sustratos biológicos.

Las cepas recuperadas fueron identificadas como virus BI mediante la prueba de precipitación en gel de agar, utilizando suero hiperinmune anti virus BI de la firma SPAFAS, USA.

*Persistencia de cepas de virus BI en tejidos de pollos SPF.* En el ensayo se utilizaron tres grupos de 21 pollos SPF cada uno, de 2 semanas de edad, mantenidos en unidades de aislamiento. Las aves de cada grupo se inocularon por instilación ocular, traqueal y nasal con aproximadamente  $10^6$  DIE<sub>50</sub>/0.1 ml, de cada una de las cepas en estudio. De 3 pollos de cada grupo se recolectaron muestras de tráquea, pulmón, proventrículo, intestino delgado (asa

duodenal), intestino grueso (ciegos y recto) y riñones. Las muestras de tejidos se obtuvieron previo y posterior a la infección (7, 12, 19, 26, 33, 40 y 47 días) y fueron procesadas de igual forma que en la primera experiencia. La recuperación de las cepas se realizó a través de inoculaciones de suspensiones de tejidos en huevos embrionados SPF y en anillos traqueales. Una muestra se consideró negativa al aislamiento, si posterior a tres pasajes seriados en huevos embrionados y a un pasaje en explantes de tráquea, no se observaron manifestaciones de infecciosidad viral.

## RESULTADOS Y DISCUSION

*Distribución de cepas en tejidos.* En los tejidos obtenidos previo a la infección no se pesquisó actividad viral. En el primer muestreo postinfección (8 horas), las cepas se recuperaron de la mayoría de los tejidos, en ambos sustratos biológicos (cuadros 1 y 2).

Al comparar los IA acumulados por tejidos en huevos embrionados, se aprecia que los mayores índices corresponden a las suspensiones de tejidos provenientes de tráquea, proventrículo, pulmón y riñones (80, 79, 72 y 53, respectivamente), siendo menores los de intestino grueso, bolsa de Fabricio, timo, intestino delgado y vesícula biliar. En forma similar, en anillos traqueales los mayores IA acumulados se presentaron en proventrículo, pulmón, tráquea, riñón e intestino grueso (78, 72, 66, 63 y 63 respectivamente), apreciándose una menor diferencia relativa entre los valores de IA de los diferentes tejidos. Los índices de aislamiento de cada una de las cepas en los diferentes tejidos fueron mayores en anillos traqueales.

*Persistencia de virus BI.* Las cepas Austral 3, 5 y 14 se pesquisaron en todos los tejidos en un primer muestreo, 7 días posterior a la infección, presentándose una persistencia similar en tráquea, pulmón, intestino grueso y riñón. La mayor persistencia se observó en intestino grueso y riñón (días 19 y 47 respectivamente), detectándose en intestino delgado y proventrículo sólo hasta el día 12.

Durante el período experimental fue posible aislar las cepas de virus BI a partir del primer muestreo (8 horas postinoculación), distribuyéndose ampliamente en los tejidos utilizados en el estudio, observación similar a la realizada por Bütcher y col. (1990), Raj y Jones (1996) y Jiang y col. (1996). Estos últimos autores, utilizando diferentes cepas de virus BI como inóculo, determinaron que las mayores concentraciones de virus se pesquisaban en riñones, tráquea y pulmón, siendo menores en cloaca, testículos, hígado, timo, bolsa de Fabricio, oviducto, bazo y corazón; resultados que explicarían los altos índices de aislamiento obtenidos de tejido respiratorio, renal, proventrículo e intestino grueso. Estos antecedentes avalan la importancia de utilizar más de un tejido en el diagnóstico directo de BI (Butcher y col., 1990).

El patrón irregular de aislamientos observados durante el período experimental de la mayoría de los tejidos en ambos sustratos biológicos podría atribuirse a una menor concentración de virus en los tejidos, a diferencias individuales en la respuesta de los pollos a la infección o al empleo de "pooles" de tejido como muestra (Lucio y Fabricant, 1990). Comparativamente, la frecuencia de recuperación de las cepas en un primer pasaje en anillos traqueales, en algunos de los tejidos examinados, fue mayor que en huevos embrionados, indicando una mayor sensibilidad de este sustrato en el aislamiento de algunas cepas (Cook, 1976; Sawaguchi y col., 1985). Al respecto, Castro y col. (1988) sugieren que para tener una mayor seguridad en el aislamiento de cepas de campo se utilicen ambos sustratos biológicos simultáneamente.

Con relación a la persistencia de las cepas en tejidos, se comprobó la presencia del virus en el tejido respiratorio, renal y digestivo en el primer muestreo, estableciéndose una mayor persistencia viral en intestino grueso y riñones tanto con la cepa Austral 3 (19 y 47 días), como con Austral 5 y Austral 14 (19 días). Diferencias en persistencia se han atribuido a la influencia de factores tales como, la edad de los pollos, serotipo del virus inoculados y vía de infección (Jones y Jordan, 1972).

**CUADRO 1. Índice de aislamiento en huevos embrionados de cepas de virus Bronquitis infecciosa de diferentes tejidos de pollos SPF, infectados experimentalmente.**  
**Isolation indexes in avian embrionated eggs of infectious bronchitis strains virus in the different tissues of SPF chicks experimentally infected.**

| Cepa                            | Hrs. p.i | PASAJE DE AISLAMIENTO |     |     |    |    |    |     |     |     | Índice de aislamiento |
|---------------------------------|----------|-----------------------|-----|-----|----|----|----|-----|-----|-----|-----------------------|
|                                 |          | TRA                   | PUL | PRO | ID | IG | VB | RIÑ | TIM | BOL |                       |
| A-3                             | 8        | 1                     | 1   | 2   | -  | 1  | 1  | 1   | 2   | 2   | 21                    |
|                                 | 16       | 1                     | 1   | 1   | 2  | 1  | 2  | 1   | 1   | 1   | 25                    |
|                                 | 24       | 1                     | 1   | 1   | -  | -  | 1  | -   | -   | -   | 12                    |
|                                 | 32       | 1                     | -   | 1   | -  | -  | -  | -   | -   | -   | 6                     |
|                                 | 40       | 1                     | 1   | 1   | -  | -  | -  | -   | -   | -   | 9                     |
|                                 | 52       | 1                     | 1   | 1   | -  | -  | -  | 1   | 3   | 1   | 16                    |
|                                 | 64       | 1                     | 1   | 1   | -  | 2  | -  | 1   | -   | 1   | 17                    |
|                                 | 76       | 1                     | 1   | 1   | 1  | 2  | 1  | 1   | -   | -   | 20                    |
|                                 | 88       | 1                     | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1   | -   | 1   | 24                    |
| Índice de aislamiento*          |          | 27                    | 24  | 26  | 8  | 13 | 14 | 18  | 6   | 14  | 150                   |
| A-5                             | 8        | 1                     | 1   | 1   | 1  | 1  | 3  | 1   | -   | 1   | 22                    |
|                                 | 16       | 1                     | 1   | 2   | 3  | 1  | -  | -   | -   | -   | 12                    |
|                                 | 24       | 1                     | 1   | 1   | 2  | 1  | -  | 1   | -   | -   | 17                    |
|                                 | 32       | 1                     | 1   | 1   | -  | 1  | -  | -   | -   | -   | 12                    |
|                                 | 40       | 1                     | 1   | 1   | 2  | -  | -  | 2   | -   | -   | 13                    |
|                                 | 52       | 2                     | 1   | 1   | -  | -  | -  | 1   | -   | -   | 11                    |
|                                 | 64       | 1                     | -   | 1   | 3  | 1  | 1  | 1   | -   | 1   | 19                    |
|                                 | 76       | 1                     | 1   | 1   | 1  | 2  | 3  | -   | 1   | 1   | 21                    |
|                                 | 88       | 1                     | 1   | 1   | -  | -  | 3  | -   | 1   | -   | 13                    |
| Índice de aislamiento           |          | 26                    | 24  | 26  | 12 | 17 | 6  | 14  | 6   | 9   | 140                   |
| A-14                            | 8        | 1                     | 1   | 1   | -  | 2  | -  | 1   | 3   | 2   | 17                    |
|                                 | 16       | 1                     | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | -   | 24                    |
|                                 | 24       | 1                     | 1   | 1   | -  | -  | 1  | 1   | 1   | -   | 18                    |
|                                 | 32       | 1                     | -   | 1   | 1  | -  | -  | -   | 1   | -   | 12                    |
|                                 | 40       | 1                     | 1   | 1   | -  | 1  | -  | 1   | -   | 1   | 18                    |
|                                 | 52       | 1                     | 1   | 1   | -  | -  | -  | 1   | 1   | -   | 15                    |
|                                 | 64       | 1                     | 1   | 1   | -  | -  | -  | -   | 3   | -   | 10                    |
|                                 | 76       | 1                     | 1   | 1   | -  | 1  | -  | 1   | 1   | 1   | 21                    |
|                                 | 88       | 1                     | 1   | 1   | 1  | 1  | 2  | 1   | 1   | 1   | 26                    |
| Índice de aislamiento acumulado |          | 27                    | 24  | 27  | 9  | 14 | 8  | 21  | 20  | 11  | 161                   |
| TOTAL                           |          | 80                    | 72  | 79  | 29 | 44 | 28 | 53  | 32  | 34  |                       |

Hrs. p.i. : Horas posterior a infección.

TRA : Tráquea, PUL: Pulmón, PRO: Proventrículo, ID: Intestino delgado, IG: Intestino grueso, VB: Vesícula biliar, RIÑ: Riñón, TIM: Timo, BOL: Bolsa de Fabricio.

\* : Índice correspondiente a la sumatoria del valor otorgado al pasaje en que se recuperó el virus. Pasaje 1= puntaje 3, pasaje 2 = puntaje 2, pasaje 3 = puntaje 1. Índice máximo posible 27.

- : Aislamiento negativo en un tercer pasaje seriado.

**CUADRO 2. Indices de aislamiento en anillos traqueales de cepas de virus Bronquitis infecciosa de diferentes tejidos de pollos SPF, infectados experimentalmente.**

Isolation indexes in tracheal rings of avian infectious bronchitis virus strains in the different tissues of SPF chicks experimentally infected.

| Cepa                            | Hrs. p.i | PASAJE DE AISLAMIENTO |     |     |    |    |    |     |     |     | Indice de aislamiento |
|---------------------------------|----------|-----------------------|-----|-----|----|----|----|-----|-----|-----|-----------------------|
|                                 |          | TRA                   | PUL | PRO | ID | IG | VB | RIÑ | TIM | BOL |                       |
| A-3                             | 8        | 1                     | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 27                    |
|                                 | 16       | 1                     | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | -   | 1   | 1   | 24                    |
|                                 | 24       | -                     | 1   | 1   | 1  | 1  | -  | 1   | 1   | 1   | 21                    |
|                                 | 32       | -                     | 1   | 1   | 1  | -  | 1  | 1   | -   | 1   | 18                    |
|                                 | 40       | 1                     | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1   | -   | -   | 21                    |
|                                 | 52       | -                     | 1   | 1   | 1  | 1  | -  | -   | 1   | 1   | 18                    |
|                                 | 64       | 1                     | 1   | 1   | -  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 24                    |
|                                 | 76       | 1                     | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1   | -   | 1   | 24                    |
| 88                              | 1        | 1                     | 1   | -   | 1  | -  | 1  | -   | 1   | 18  |                       |
| Indice de aislamiento*          |          | 18                    | 27  | 27  | 21 | 24 | 18 | 21  | 15  | 24  | 195                   |
| A-5                             | 8        | 1                     | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1   | -   | 1   | 24                    |
|                                 | 16       | 1                     | 1   | 1   | 1  | 1  | -  | 1   | 1   | 1   | 24                    |
|                                 | 24       | 1                     | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | -   | 1   | 1   | 24                    |
|                                 | 32       | 1                     | 1   | 1   | 1  | -  | 1  | -   | -   | -   | 15                    |
|                                 | 40       | 1                     | -   | 1   | -  | 1  | -  | 1   | -   | -   | 12                    |
|                                 | 52       | 1                     | 1   | 1   | 1  | 1  | -  | 1   | -   | -   | 21                    |
|                                 | 64       | 1                     | -   | -   | -  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 18                    |
|                                 | 76       | 1                     | 1   | 1   | 1  | 1  | -  | 1   | 1   | -   | 12                    |
| 88                              | 1        | 1                     | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 24  |                       |
| Indice de aislamiento           |          | 24                    | 21  | 24  | 21 | 24 | 18 | 21  | 15  | 15  | 183                   |
| A-14                            | 8        | 1                     | 1   | 1   | -  | 1  | -  | 1   | -   | 1   | 18                    |
|                                 | 16       | 1                     | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | -   | 24                    |
|                                 | 24       | 1                     | 1   | 1   | 1  | -  | 1  | 1   | 1   | 1   | 24                    |
|                                 | 32       | -                     | -   | 1   | 1  | -  | -  | -   | 1   | 1   | 15                    |
|                                 | 40       | 1                     | 1   | 1   | 1  | 1  | -  | 1   | 1   | 1   | 24                    |
|                                 | 52       | 1                     | 1   | 1   | -  | -  | -  | 1   | -   | -   | 12                    |
|                                 | 64       | 1                     | 1   | 1   | -  | -  | -  | -   | 1   | 1   | 15                    |
|                                 | 76       | 1                     | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 27                    |
| 88                              | 1        | 1                     | 1   | -   | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 24  |                       |
| Indice de aislamiento acumulado |          | 24                    | 24  | 27  | 15 | 15 | 12 | 21  | 21  | 21  | 180                   |
| TOTAL                           |          | 66                    | 72  | 78  | 57 | 63 | 48 | 63  | 51  | 60  |                       |

Hrs. p.i. : Horas posterior a infección.

TRA : Tráquea, PUL: Pulmón, PRO: Proventrículo, ID: Intestino delgado, IG: Intestino grueso, VB: Vesícula biliar, RIÑ: Riñón, TIM: Timo; BOL: Bolsa de Fabricio.

\* : Indice correspondiente a la sumatoria del valor otorgado al pasaje donde se recuperó el virus. Pasaje 1= puntaje 3. Indice máximo posible 27.

- : Aislamiento negativo en un tercer pasaje seriado.

**CUADRO 3. Persistencia de cepas de virus Bronquitis infecciosa (Austral 3, 5 y 14) en tejidos de pollos SPF determinada en huevos embrionados y anillos traqueales.**

**Persistence of the infectious bronchitis virus strains (Austral 3, 5 and 14 ) on tissues of SPF chicks determined on avian embrionated eggs and tracheal rings.**

| TEJIDOS         | DIAS POSTERIOR A LA INFECCION |     |     |    |    |     |    |    |     |    |    |     |    |    |     |    |    |     |     |    |     |
|-----------------|-------------------------------|-----|-----|----|----|-----|----|----|-----|----|----|-----|----|----|-----|----|----|-----|-----|----|-----|
|                 | 7                             |     |     | 12 |    |     | 19 |    |     | 26 |    |     | 33 |    |     | 40 |    |     | 47  |    |     |
|                 | A3                            | A5  | A14 | A3 | A5 | A14 | A3 | A5 | A14 | A3 | A5 | A14 | A3 | A5 | A14 | A3 | A5 | A14 | A3  | A5 | A14 |
| Tráquea         | +                             | +   | +   | -  | -  | -   | -  | -  | -   | -  | -  | -   | -  | -  | -   | -  | -  | -   | -   | -  | -   |
| Pulmón          | +                             | +   | +   | -  | -  | -   | -  | -  | -   | -  | -  | -   | -  | -  | -   | -  | -  | -   | -   | -  | -   |
| Proventrículo   | +                             | +   | +   | -  | +  | +   | -  | -  | -   | -  | -  | -   | -  | -  | -   | -  | -  | -   | -   | -  | -   |
| Intest. delgado | +                             | (+) | -   | +  | -  | +   | -  | -  | -   | -  | -  | -   | -  | -  | -   | -  | -  | -   | -   | -  | -   |
| Intest. grueso  | +                             | +   | +   | +  | +  | +   | +  | +  | +   | -  | -  | -   | -  | -  | -   | -  | -  | -   | -   | -  | -   |
| Riñón           | +                             | +   | +   | +  | +  | +   | +  | +  | +   | -  | -  | -   | -  | -  | -   | -  | -  | -   | (+) | -  | -   |

+ : Cepa aislada.

- : Cepa no aislada.

(+) : Cepa aislada en un tercer pasaje en huevos embrionados y anillos traqueales.

Algunos investigadores señalan la particular afinidad de cepas denominadas “variantes” por el sistema digestivo, que pueden ser aisladas a partir de heces, 28 a 144 días posterior a la infección (El Houadfi y col., 1986; Cook, 1968).

**RESUMEN**

Se estudió la distribución y persistencia de tres cepas de campo de virus Bronquitis infecciosa (Austral 3, 5 y 14), en tejidos de pollos libres de patógenos específicos, infectados experimentalmente. Para determinar la distribución, se utilizaron tres grupos de 30 pollos cada uno, de 2 semanas de edad, inoculados por instilación ocular y nasal con  $10^4$  DIE<sub>50</sub>/0.1 ml de cada una de las cepas en estudio. Previo y posterior a la infección (cada 8 horas hasta el segundo día y cada 12 horas hasta el cuarto día), se sacrificaron 3 pollos por grupo, recolectándose tráquea, pulmón, proventrículo, vesícula biliar, intestino delgado, intestino grueso, riñones, timo y bolsa de Fabricio. En cada uno de los muestreos, tejidos iguales se agruparon y homogeneizaron, adicionándose posteriormente PBS con antibióticos, en una relación 5% peso/ volumen. La recuperación de las cepas se realizó en huevos embrionados SPF

y anillos traqueales, expresándose los resultados en índices de aislamiento.

El estudio de persistencia en tejidos se realizó en tres grupos de 21 pollos cada uno, de 2 semanas de edad. Cada grupo fue infectado, mediante instilación ocular, nasal y traqueal, con  $10^5$  DIE<sub>50</sub>/0.1 ml de la suspensión viral. Transcurridos 7, 12, 19, 26, 33, 40 y 47 días de la infección, de cada grupo se obtuvieron muestras de tráquea, pulmón, proventrículo, intestino delgado, intestino grueso y riñones, intentándose el aislamiento de las cepas en huevos embrionados y anillos traqueales.

En la primera experiencia, considerando el período total de observación, las cepas se recuperaron en ambos sustratos biológicos, de los 9 tejidos examinados. Sin embargo, éstas no se recuperaron en el 100% de las muestras. Los mayores índices de aislamientos se registraron de las suspensiones de tráquea, pulmón, proventrículo, riñón e intestino grueso. En algunos tejidos, la frecuencia de aislamientos de las cepas en un primer pasaje fue mayor en anillos traqueales, indicando una mayor sensibilidad de este sustrato. Con relación a la persistencia de las cepas en tejidos, no se presentaron grandes diferencias, observándose una mayor permanencia en intestino grueso y riñones (19 y 47 días respectivamente).

## BIBLIOGRAFIA

- ALEXANDER, D. J., R. E. GOUGH. 1977. Isolation of avian infectious bronchitis virus from experimentally infected chickens. *Res. Vet. Sci.* 23: 344-347.
- BUTCHER, G. D., R. W. WINTERFIELD, D. P. SHAPIRO. 1990. Pathogenesis of H13 nephropathogenic infectious bronchitis virus. *Avian Dis.* 34: 916-921.
- CASTRO, A. E., B. REYNOLDS, D. HILL, H. LU. 1988. Diagnosis of avian infectious bronchitis virus in clinical and field specimens using tracheal ring organ cultures and serology. In: Proceedings of the thirty-seventh western poultry disease conference, February 29 – March 2. 1988. Davis, California. pp: 36-40.
- CAVANAGH, D., S. A. NAQI. 1997. Infectious Bronchitis. In: Calnek, B. W., Barnes, H. J., Beard, C. W., McDougald, L. R., Saif, Y. M. (eds.). Diseases of Poultry. 10<sup>th</sup>, ed. pp. 511-526. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA.
- COOK, J. K. 1968. Duration of experimental infectious bronchitis in chickens. *Res. Vet. Sci.* 9: 506-514.
- COOK, J. K., J. H. DARBYSHIRE, R. W. PETERS. 1976. The use of chicken tracheal organ cultures for the isolation an assay of avian infectious bronchitis virus. *Arch. Virol.* 50: 109-118.
- CUBILLOS, A., J. ULLOA, V. CUBILLOS, J. K. A. COOK. 1991. Characterisation of strain of infectious bronchitis virus isolated in Chile. *Avian Path.* 20: 85-99.
- EL HOUADFI, M. D., R. C. JONES, J. K. A. COOK, A. G. AMBALI. 1986. The isolation and characterisation of six avian infectious bronchitis viruses isolated in Morocco. *Avian Path.* 15: 93-105.
- GALLARDO, R., P. OLIVARES. 1984. Aislamiento de virus bronquitis infecciosa de un problema de uricosis en aves en producción. V Congreso Nacional de Medicina Veterinaria, Valdivia, Chile. pp: 17.
- GARCIA, A., M. NORAMBUENA. 1969. Diagnóstico preliminar de bronquitis infecciosa en Chile. *Rev. Soc. Med. Vet. Chile.* 19: 27-33.
- HIDALGO, H., R. GALLARDO, S. ROSENDE. 1976. Isolation of infectious bronchitis virus from broilers chickens in Chile. *Avian Dis.* 20: 601-603.
- HIDALGO, H., R. GALLARDO, H. TORO. 1986. Características antigénicas y patológicas de 3 aislados del virus de la bronquitis infecciosa obtenidos en aves vacunadas. *J. Vet. Med.* 33: 26-35.
- JIANG, G. T., L. J. KANG, Y. K. WANG. 1996. Distribution of nephropathogenic avian infectious bronchitis virus antigen in different viscera of chickens. *Chinese J. Vet. Med.* 22: 8-9.
- JONES, R. C., F. T. W. JORDAN. 1972. Persistence of virus in the tissues and development of the oviduct in the fowl following infection at day old with infectious bronchitis virus. *Res. Vet. Sci.* 13: 52-60.
- LUCIO, B., J. FABRICANT. 1990. Tissue tropism of three cloacal isolated and Massachusetts strain of infectious bronchitis virus. *Avian Dis.* 34: 865-870.
- RAJ, G. D., R. C. JONES. 1996. Immunopathogenesis of infection in SPF chicks and commercial broiler chickens of a variant infectious bronchitis virus of economic importance. *Avian Path.* 25: 481-501.
- SAWAGUCHI, K., S. YACHIDA, S. AOYAMA, N. TAKAHASHI, Y. IRITANI, Y. HAYASHI. 1985. Comparative use of direct organ cultures of infected chicken tracheas in isolating avian infectious bronchitis virus. *Avian Dis.* 29: 546-552.
- ULLOA, J., A. CUBILLOS, J. K. COOK, V. DIAZ. 1990. Tipificación de cepas virales bronquitis infecciosa (VBI) no relacionados con serotipos Massachusetts. XII Congreso Chileno de Microbiología. Viña del Mar, 25-28 Abril. pp: 26.

