

Las porinas como adyuvante de una vacuna inactivada contra *Newcastle* en pollos de engorde¹

Francisco Bustos M.* / Nelly Johana Mora P.** / Sandra Johanna Valdivieso P. **

RESUMEN

Tres grupos de pollo de engorde, de 25 aves cada uno, fueron vacunados por vía de aerosol, utilizando virus inactivado de Newcastle (NC), y como adyuvante diferentes concentraciones de porinas (20 µg, 50 µg, 125 µg) y un cuarto grupo vacunado con virus vivo (cepa B1 por vía nasal), a los 12 y 28 días de edad. El virus de NC (cepa La Sota) fue concentrado 10 veces con PEG (Polietilenglicol), con un título final de 1:2.056. Veinte sueros de cada uno de los grupos fueron tomados para evaluar títulos de anticuerpos para NC, utilizando la prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación (IH) e IgA por Inmunodifusión radial, al día 1, 12, 28 y 42 de edad. Durante el estudio, los pollos fueron sometidos a restricción alimenticia para controlar la Ascitis (2.640 m.s.n.m.). Al día 42 de edad, dos aves murieron por ascitis del grupo 4 (virus vivo) y una del grupo 1 (20 µg de porina), por edema pulmonar. El promedio geométrico de los títulos de anticuerpos para NC al día 42, en los grupos 1, 2, 3, fue de 2 y de 5.7 para el grupo de virus vivo (Log 2). Para las IgA fue de 180 mg/dl, 135 mg/dl, 120 mg/dl y 176 mg/dl, respectivamente. Al día 42 de edad, tres pollos de cada grupo fueron desafiados con una cepa patógena de NC, observándose resistencia a la descarga, especialmente en el grupo vacunado con virus vivo, con base en las aves utilizadas como control positivo, las cuales murieron a las 72 horas post descarga. Los exámenes macro y microscópicos de las bolsas de Fabricio y el timo, no revelaron ningún cambio, en las aves de los cuatro grupos al día 42 de edad. El resultado zootécnico en los cuatro grupos, mostró muy buenos resultados en cuanto a conversión y eficiencia. Se recomienda realizar otros ensayos utilizando una dosis fija de porina, con un grupo mayor de aves, con el fin de estandarizar el empleo de porinas como adyuvante de virus inactivados y establecer los niveles protectivos de IgA, frente al desafío con virus de NC.

Palabras clave: porinas, Newcastle, inmunización, pollos.

PORINAS AS AN ADYUVANT OF INACTIVATED NEWCASTLE VACCINE IN BROILERS

ABSTRACT

Three groups of 25 broilers were vaccinated on two opportunities by aerosol using inactivated NC (Newcastle) virus and different helper concentrations of porinas (20 µg, 50 µg, 125 µg). A fourth group was injected with live B1 virus (12 and 28 days of age) nasally. The NC inactivated virus (La Sota strain) was concentrated 10 times with PEG with a final titer of 1:2.056. Twenty serums for each group were taken in order to evaluate NC antibodies using the HI and double immuno-difusion tests for IgA detection at 1, 12, 28 and 42 days of age. During the study the chickens were on a restricted diet in order to control ascites (2.640 mosl). On day 42, two broilers of the fourth group (live virus) presented ascites and 1 broiler of group 1 presented lung edema (20 µg). The geometric mean for NC antibodies titers at 42 days of age was 2 in the groups 1,2,3 and 5.7 in the group 4 (Log 2). For IgA, 180 mg/dl, 135 mg/dl, 120 mg/dl and 176 mg/dl respectively. Three broilers of each group were challenged with a pathogenic strain of NC, at 42 day of age, without signs of disease after 72 hours when the positive control group was dead. Gross and microscopic lesions were not detected in the bursa of Fabricius or thymo. [thymo sounds like short hand for something that should be properly named.] Very good animal weight, conversion and efficiency results were observed in all the groups. New studies using a fixed dose of porinas, larger numbers of broilers and the establishment of protective levels of IgA against NC challenge are recommended.

Key words: Porinas, New Castle, immunization, broilers.

¹ Proyecto de investigación subvencionado por Laboratorio Calier de Los Andes, S.A.

* Médico Veterinario, MSc., MVSc. Profesor Patología Aviar ULS. E-mail: franciscobustos@hotmail.com

** Médicas Veterinarias Universidad de La Salle.

Fecha recepción: 23 de febrero de 2005.

Fecha de aprobación: 22 de abril de 2005

INTRODUCCIÓN

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la eficacia de un método de vacunación masivo contra la enfermedad de Newcastle utilizando virus inactivado, y con un adyuvante a base de porinas en pollos de engorde, con el fin de disminuir el estrés, evitar la eliminación del antígeno vacunal y por ende los cambios genómicos observados con estos agentes al pasar por aves susceptibles u otros organismos vivos, incluso diferentes a las aves (ratas, insectos, cerdos, etc.), disminuir las reacciones post vacunales debido a la presencia de agentes oportunistas como el *Mycoplasma*, y por la misma razón reducir los costos económicos por la compra de antibióticos.

El trabajo se llevó a cabo evaluando la enfermedad de Newcastle, puesto que dentro de todas las patologías conocidas en aves es una de las más importantes, y su presencia en nuestro país, tiene grandes repercusiones económicas ya que impide la negociación de los productos y subproductos aviares a nivel internacional, además de las altas morbi-mortalidades que induce.

El presente trabajo se realizó con base en investigaciones anteriores que postulan el efecto de las llamadas porinas en la respuesta a nivel inmunológico en las aves. Por tal razón se decidió establecer la efectividad de la inmunización en pollos de engorde con vacunas a base de virus inactivado, utilizando como adyuvante porinas, para determinar el grado de protección inferido por las mismas, teniendo en cuenta diferentes concentraciones del adyuvante. Como control se vacunó un grupo de pollos con virus vivo por vía nasal, como punto de comparación con el virus inactivado.

MATERIALES Y MÉTODOS

LOCALIZACIÓN

El presente estudio fue realizado en un galpón localizado en el municipio de Tenjo, el cual se encuentra a una altura de 2.640 m.s.n.m. y una temperatura promedio de 14°C. El municipio se halla en la Sabana de Bogotá, al noroccidente de la capital de la República, de la cual dista 47 kilómetros.

GRUPO EXPERIMENTAL

En esta investigación, los pollitos de engorde (raza Ross) se dividieron al día 12 en 4 lotes de 25 aves cada uno, separados en diferentes corrales, a los cuales se les aplicó una dosis de porina y virus inactivado. En el grupo 1 se administró antígeno inactivado con 20 µg del adyuvante (porinas); en el grupo 2 se administró antígeno inactivado con 50 µg del adyuvante (porinas); en el grupo 3 se administró antígeno inactivado con 125 µg del adyuvante (porinas); y en el grupo 4 (lote control) vacunando con una vacuna viva comercial cepa B1. Al día 28 todos los grupos (1, 2, 3 y 4) fueron revacunados en forma similar a la primovacunación.

Un grupo de 12 pollos del mismo lote del experimental desde el día 12 de edad fueron mantenidos en una casa de campo, sin aplicación de ningún tipo de inmunógeno hasta el día 42 de edad tiempo en el que se utilizaron para la descarga del virus patógeno.

PLAN INMUNIZACIÓN

Los grupos uno, dos y tres recibieron mediante el sistema de aerosol una primera vacunación a los doce

días de edad, con una revacunación al día 28 de edad; la vacuna inactivada con porina se administró utilizando un atomizador comercial.

Al grupo 4 se le suministró el virus vivo mediante gota nasal, en los mismos días en que se les administró a los otros grupos.

El producto adyuvante correspondió a una suspensión compuesta por porinas lipopolisacárido (LPS) de la membrana externa de *Escherichia coli*, lote Ppo8 fabricado en Diciembre 2002, con una concentración de 0.11 mg/ml, en 200 ml. El virus La Sota fue concentrado 10 veces con PEG (polietilenglicol) con un título de 2048.

La preparación de la porina es de acuerdo con la concentración inicial de la porina (110 microgramos x ml), se realizaron las correspondientes diluciones de ésta, para obtener las concentraciones deseadas por ave (20 microgramos, 50 microgramos y 125 microgramos), en un volumen final, constante, utilizando un diluyente comercial estéril para vacunas vivas.

EVALUACIÓN DE LA MORTALIDAD

Todos los pollos que murieron durante el experimento se sometieron a examen de necropsia, al igual que cuando se terminó el estudio.

EXÁMENES SEROLÓGICOS

Los pollos se sangraron al día uno (día de llegada), día 12, día 28 y al día 42 (finalización del estudio), con el fin de determinar las concentraciones de anticuerpos para la enfermedad de Newcastle, mediante la prueba de HI.

Como complemento al presente estudio y teniendo en cuenta que en la enfermedad de Newcastle una de las vías principales de infección es a través del

tracto respiratorio se hicieron determinaciones de la protección local mediante evaluación de anticuerpos IgA.

DESAFÍO POR CONTACTO

Al día 46 de edad, fueron inoculados dos pollos (sin ninguna vacuna) con 0.5 ml de virus de Newcastle vía ocular a cada ave; posteriormente éstos se pusieron en contacto con 3 pollos de cada uno de los grupos escogidos al azar. Las 14 aves fueron observadas durante 5 días (día en el cual murió la primera ave).

El sitio donde se realizó la descarga fue un cuarto aislado con un área de 4 mt², en el cual nunca se habían alojado aves.

Las medidas de bioseguridad practicadas se basaron principalmente en la desinfección de las botas previa entrada y salida al galpón, manejo de las aves realizado por una sola persona una vez al día, almacenamiento del concentrado dentro del mismo galpón y posterior incineración de equipo y aves contaminadas.

ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO

Se tomaron al azar muestras de timo y bolsa de Fabricio, de cada una de las aves de todos los grupos, con el objeto de evaluar cambios histopatológicos.

CONTROL DE PESO

Cada ocho días los pollos de cada grupo se pesaron con el fin de establecer las curvas de peso y crecimiento.

Durante el estudio los animales consumieron un concentrado comercial tipo crombelizado, tanto el de iniciación, como el de engorde, el cual se administró a las aves con un plan de restricción alimenticia, para controlar la ascitis.

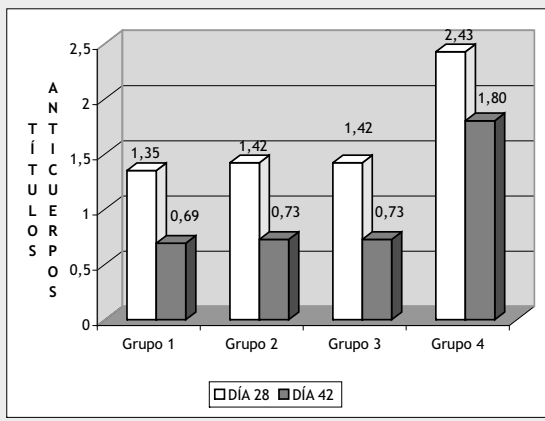
RESULTADOS

EVALUACIÓN DE TÍTULOS DE NEWCASTLE

TABLA 1. TÍTULOS DE NEWCASTLE AL DÍA 12, 28 Y 42.

Día	Grupo	No. de Sueros con el mismo título	Títulos
12	Total al azar	1	8
		3	16
		7	32
		7	64
		3	128
28	1	8	2
		8	4
		2	8
		1	16
		1	32
	2	5	2
		10	4
		4	8
	3	1	16
		4	2
		11	4
	4	5	8
2		4	
8		8	
8		16	
2		32	
42	1	20	2
		19	2
	2	1	4
		19	2
	3	1	4
		3	2
	4	7	4
		5	8
		5	16

FIGURA 1. COMPARACIÓN DE LOS PROMEDIOS DE PRODUCCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA NEWCASTLE EN LOS DÍAS 28 Y 42.



EVALUACIÓN DE LA MORTALIDAD

TABLA 2. MORTALIDAD.

Grupo	No. aves	Causa
1	1	Síndrome muerte súbita
4	2	Ascitis

RESULTADOS DE ANTICUERPOS IgA

Al día 2 de edad de las aves, se determinó un promedio aritmético de 10.8 mg/dl, al día 12 y antes de aplicar la primera inmunización un promedio de 39.3 mg/dl, lo cual es indicativo de la absorción completa de los anticuerpos maternos por la reabsorción adecuada del saco vitelino.

TABLA 3. DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS IgA AL DÍA 28, 42 Y EN EL DESAFÍO.

Día	Grupo	Promedio mg/dl
28	1	91
	2	23,7
	3	134,15
	4	153,1
42	1	180
	2	135
	3	120,6
	4	176
Desafío	1	105
	2	43
	3	72
	4	82
	Aves sin vacuna	49

ESTUDIO MACRO Y MICROSCÓPICO DE BOLSAS DE FABRICIO Y TIMOS

Las bolsas de Fabricio y timos, al momento del sacrificio y en cada uno de los grupos, se encontraron

de un mayor tamaño y sin ningún cambio histopatológico.

DISCUSIÓN

ANTICUERPOS

Con relación a los anticuerpos maternos al día 12 (Tabla 1) se encontraron títulos que oscilaron entre 8 y 128; con un promedio geométrico de 42.2, lo cual indica a las claras que este grupo de animales presentó un aceptable título de anticuerpos maternos que, como ha sido comprobado en otros estudios, son altamente protectivos aun en presencia de cepas de desafío. Por esta razón la primera inmunización con virus inactivado más porina y con virus vivo se realizó al día 12 de edad.

De acuerdo con la Tabla 1, los anticuerpos al día 28 en el lote 1 (20 mg porina), los títulos postvacunales oscilaron entre 2 y 32 con un promedio geométrico de 4. Con relación al grupo 2 (50 mg porina) los títulos oscilaron entre 2 y 16 con un promedio geométrico de 4.3. En el grupo 3 (125 mg porina) los títulos oscilaron entre 2 y 8 con un promedio geométrico de 4.3. Como puede observarse, los promedios individuales y generales de anticuerpos para Newcastle en los grupos 1, 2 y 3 fueron relativamente bajos si se comparan con los obtenidos en el grupo 4 donde se utilizó virus vivo (cepa B1), al detectarse títulos que oscilaron entre 4 y 64 con un promedio geométrico de 10.6; un poco más del doble de los obtenidos con el virus inactivado adicionado de la porina.

Con relación a los títulos de anticuerpos obtenidos al día 42 en el lote 1, los títulos en el 100% de los sueros tuvieron un valor de 2 con un promedio geométrico de 2. En el grupo 2 los títulos estuvieron entre 2 y 4 con un promedio geométrico de 2. En el grupo 3 los títulos oscilaron entre 2 y 4 con un

promedio geométrico de 2. Evaluando los resultados de los títulos obtenidos en la primera y segunda vacunación se observó que los títulos de anticuerpo disminuyeron sustancialmente a la mitad, con relación a los obtenidos en la primera vacunación; situación observada también en el grupo 4 el cual fue revacunado con virus vivo (cepa B1) al presentar títulos que oscilaron entre 2 y 16 con un promedio geométrico de 5.7.

Una de las posibilidades de esta reducción en los títulos de anticuerpos pudo ser debida al sistema empleado para practicar la vacunación por el método de aerosol, ya que en la presente investigación como la anterior, se utilizó un aerosol comercial, debido al bajo volumen de inóculo necesario para la vacunación de 25 aves, lo cual proporciona una baja seguridad en cuanto al tamaño de la gota fina, necesaria para realizar una inmunización adecuada. Con relación al grupo 4 (virus vivo - cepa B1), es conocido que esta cepa no es inductora de títulos elevados de anticuerpos, además de que estos fueron evaluados al día 42.

Otra explicación bastante aceptable para entender la reducción de los títulos, pudo ser debida al estrés inducido por el esquema de restricción alimenticia al que fueron sometidos los grupos experimentales, con el fin de evitar la presentación de Ascitis ya que el estudio fue realizado a 2.640 m.s.n.m.

A pesar de haber utilizado el sistema de aerosol no muy recomendable en pollos de engorde en nuestro medio por la presencia de *Mycoplasma*, no se observaron signos respiratorios en ninguno de los grupos (1, 2, 3) en donde se utilizó este sistema y por lo tanto el no empleo de antibióticos como ocurre rutinariamente en las granjas del país.

MORTALIDAD

Con relación a la mortalidad, solamente murieron tres aves (Tabla 2). Dos de ellas correspondientes al

grupo 4 (virus vivo) con un cuadro típico de Ascitis y un ave del grupo 1 (20 mg porina) por muerte súbita; lo cual demuestra que el sistema de restricción alimenticia usado para climas fríos actuó de forma adecuada, exceptuando el estrés inducido en los pollos por dicha restricción, que como se discutió anteriormente pudo haber tenido una repercusión importante en la respuesta humoral.

DETERMINACIÓN IgA

Como puede observarse en la Tabla 3, esta inmunoglobulina tuvo un aumento sustancial (el doble) en el grupo 1; en el grupo 2 se observó el máximo aumento de la misma (23.78 mg/dl vs 135 mg/dl) con alguna reducción no muy importante en el grupo 3. En el grupo 4 se apreció una elevación de la misma, entre la primera y segunda determinación.

El virus de Newcastle se replica en el aparato respiratorio. Por esto se consideró evaluar la protección local empleando la determinación de IgA, trabajo que corresponde a la segunda parte del presente y por lo tanto el análisis estadístico y la interpretación de los resultados se discutirá en el mismo estudio.

PRUEBA DE DESAFÍO

Cabe destacar que los pollos utilizados para la descarga de Newcastle fueron mantenidos en un salón distante del sitio donde estaban los pollos del experimento.

Durante el período de desafío (cinco días) tiempo en el cual uno de los pollos sin vacuna para Newcastle murió presentando lesiones típicas de una cepa patógena, un ave del grupo 1 presentó anorexia y diarrea, al igual que un ave del grupo 2. Una de las aves del grupo 3 presentó anorexia, diarrea y estertores. No se observó ninguna signología en las

aves vacunadas con virus vivo, lo cual es indicativo de que a pesar que los títulos de anticuerpos fueron relativamente bajos, los títulos de inmunidad local (IgA) pueden considerarse protectivos para la enfermedad de Newcastle.

Un ave del grupo 1 y otra del grupo 2 murieron veinticuatro horas después de la muerte del ave sin vacuna contra Newcastle presentando lesiones típicas de la enfermedad. 48 horas después de la muerte de esta ave (sin vacuna) murió un ave del grupo 1, dos del grupo 2, una del grupo 3 y ninguna del grupo 4.

La necropsia de estas aves reveló, además de las lesiones típicas de Newcastle, como son hemorragias a nivel del proventrículo y amígdalas cecales, úlceras alargadas a nivel del intestino y traqueitis hemorrágica; lesiones compatibles con la enfermedad de Gumboro en algunas de las bolsas de Fabricio estudiadas, lo cual es indicativo de la presencia de este virus en el inóculo empleado para la descarga, teniendo en cuenta que la caracterización del virus no se realizó de una manera adecuada pudiendo estar contaminada con este virus; además es importante destacar que las medidas de bioseguridad empleadas durante el estudio siempre fueron adecuadas, como fue observado en el desempeño de los pollos antes del desafío.

La confirmación de la presencia del virus de Newcastle fue el reaislamiento del mismo a nivel de laboratorio, a partir de tejidos como pulmón y tráquea de las aves enfermas.

Este factor se debe tomar en cuenta dentro de la evaluación del tiempo en que ocurrió la muerte de las aves y en los títulos de anticuerpos (HI - IgA), ya que estos virus son inmunosupresores.

Debido a que el número de aves sometidas a la descarga no fue representativo estadísticamente, se

evaluó la respuesta al virus basándose en la sintomatología de los pollos durante el período en el cual las aves estuvieron en contacto con los animales infectados.

EVALUACIÓN ZOOTÉCNICA

Teniendo en cuenta la mortalidad (3 aves) y el promedio de los pesos de los cuatro grupos (los 25 pollos de cada grupo eran pesados en su totalidad), el grupo 1 fue el que presentó el mejor peso (2.293 g), seguido por el grupo 3 (2.253 g), luego el grupo 4 (2.253 g), siendo el grupo 2 el de menor peso (2.164 g), al día 42 del experimento con un consumo de 3.5 Kg por ave.

Grupo	# Aves	Conversión final	Eficiencia
1	25	1.5	152%
2	25	1.6	135%
3	25	1.55	145%
4	25	1.56	145%

Con base en los datos anteriores, tanto la conversión como la eficiencia se consideran buenas para cada uno de los grupos, lo cual redundará en beneficios para el avicultor.

CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta los resultados de la prueba de HI para la determinación de anticuerpos contra Newcastle, se observó que los grupos vacunados con porinas más virus inactivado obtuvieron una protección aceptable pero no tan alta como la obtenida con el virus vivo.

La utilización de vacunas inactivadas junto con un adyuvante a base de porinas es una buena alternativa

para evitar la eliminación de antígenos vivos, así como las mutaciones de los mismos y las reacciones post vacunales presentes en todas las granjas del país, evitando a su vez el uso de antimicrobianos.

Las aves presentaron un mayor tamaño del timo y bolsa de Fabricio, lo cual favorece la respuesta inmune del ave, mejorando la capacidad para producir anticuerpos. El tamaño ideal de estos órganos no se observa rutinariamente en pollos comerciales del país, debido a la utilización de las vacunas de Gumboro y Bronquitis Infecciosa que son usadas frecuentemente en el país.

Mediante la prueba de desafío se demostró el posible efecto protector que brindan las porinas ante la presencia de un virus de campo con alta patogenicidad como el utilizado en este estudio, lo cual se demostró en un período de cinco días durante el que no murió ningún ave de los cuatro grupos; por esta razón se concluye que los pollos de todos los grupos superaron la prueba.

De acuerdo con la respuesta al desafío el grupo 4 (virus vivo) fue el que mejor respondió a éste, ya que ningún ave murió; dentro de los grupos con porinas el mejor fue el grupo 3 (125 µg) en el cual se observó menor sintomatología durante el período posterior a la descarga y leves lesiones a la necropsia; seguido por el grupo 1 (20µg) y por último el grupo dos (50 µg) los cuales presentaron sintomatología respiratoria y lesiones típicas de Newcastle a la necropsia.

Considerando los resultados obtenidos con este trabajo es conveniente realizar nuevos estudios con las porinas como adyuvante de vacunas, para verificar la eficacia de las mismas.

Se observó una marcada reducción de tamaño de los órganos linfoides posterior a la descarga (bolsa de Fabricio, timo), debido principalmente a la

inmunosupresión causada por los virus de Newcastle y Gumboro.

RECOMENDACIONES

Realizar un trabajo con una dosis fija con adyuvante porina y en un número mayor de aves, con el fin de utilizar equipos modernos para la aplicación efectiva de la vacuna con mayor cantidad de inóculo vacunal y así evitar errores en la interpretación de resultados de laboratorio.

Es conveniente realizar otros estudios similares al presente con el fin de encontrar una dosis ideal que proteja a las aves contra el virus de Newcastle ante un desafío de campo.

Con el fin de evaluar la eficacia de la vacuna con el adyuvante porina, utilizar un mayor número de animales en la prueba de desafío para lograr establecer resultados estadísticos, con un grupo significativo; para lo cual sería recomendable hacerlo a nivel de laboratorio.

A pesar de que las aves no tuvieron desafío de campo puede recomendarse la utilización de una cepa suave

como la B1 para la vacunación y revacunación ya que los efectos post-vacunales con sintomatología respiratoria son mínimos o imperceptibles, ayudando al avicultor a reducir costos por no tener que aplicar antibióticos.

Establecer los valores normales para la inmunoglobulina IgA en aves, y que sirvan de base para medir el grado de protección frente a distintas enfermedades.

El sistema de restricción alimenticia utilizado para clima frío es recomendable desde el punto de vista zootécnico para el control de la ascitis y así obtener una buena conversión y eficiencia.

Se sugiere que estudios similares al presente se realicen en áreas donde la ascitis no sea un problema inductor de mortalidad por su alta prevalencia, ya que ésta fue una limitante en este estudio por la mortalidad de dos aves, a pesar de la restricción alimenticia a la cual fueron sometidas las aves.

Se recomienda mejorar el manejo de los virus aislados en el laboratorio utilizado para la descarga, lo cual se puede lograr haciendo una mejor purificación de dichos agentes.

BIBLIOGRAFÍA

- AL-Garib, S.O, Gielkens, A.L.J., Gruys, E., Hartog L. y Koch, G. «Immunoglobulin Class Distribution of Systemic and Mucosal Antibody Responses to Newcastle Disease in Chickens». *Avian Diseases*. 47.1 (2003): 32-38.
- Báez Arellano, Jesús. 1994. *Patología de las Aves*. México: Trillas.
- Bacteriología Generalidades Microorganismos Gram negativos. <http://www.microbiología.com.ar/bacteriologia/general.php?Mostrar=negativos>
- Box, P. «Health Care With Maternally Derived Antibodies». *Poultry International Magazine*. (1985).
- Bustos Malavet, Francisco. «Caracterización Biológica y Molecular de Cepas del Virus de Newcastle Aisladas en Colombia». *Avicultores*. 53. (1999).
- Bustos Malavet, Francisco. 2001. *Inmunosupresión en Aves Comerciales*. Bogotá: Universidad de La Salle.
- Calnek, B. W. 1995. *Enfermedades de las aves*, México, D. F.: Manual Moderno.
- «Conceptos y Avances en Resistencia Bacteriana». *Revista ILADIBA*. Avances Biomédicos de Actualidad. 10. 7. (1996).
- Donelly, J, Dereck, R. y Liu M. «Immunogenicity of Haemophylus Influenzae Polisaccharide Neisseria Meningitide Outer Membrane Protein Vaccine». *J. Immunology*. (1990).
- Halliwel R. 1992. *Inmunología Clínica Veterinaria*. Zaragoza, España: Acribia.
- INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO ICA. «El Newcastle en las Aves». *Avicultura Empresarial*. 5. 26. (1996).
- Jordán F. 1985. *Enfermedades de las Aves*. México D. F.: Manual Moderno.
- La Pared de Bacterias Gram-negativas*. http://www.ugr.es/~eianez/Microbiologia/05_Micro.html
- López, Pablo. *Papel de las proteínas de membrana externa en patogenicidad y virulencia bacteriana*. Chile. <http://www.geocities.com/moralab/omps.html>
- Mora Campos, Daniel. 1991. *Importancia de los anticuerpos maternos frente a las enfermedades de Newcastle, bronquitis y Gumboro en aves de línea liviana*. Bogotá. Trabajo de grado (Medico Veterinario). Universidad de La Salle de Colombia. Facultad de Medicina Veterinaria. Sanidad Animal.
- Tizard, I. 1982. *An Introduction to Veterinary Immunology*, Texas: Mc. Graw Hill.
- Tizard, I. 1996. *Inmunología Veterinaria*, Texas: Mc. Graw Hill.
- Velandia, A., Rodríguez, C. 2002. *Valoración de la eficacia de una porina como adyuvante de una vacuna inactivada contra el virus de Newcastle*. Bogotá. Trabajo de grado (Medico Veterinario). Universidad de La Salle de Colombia. Facultad de Medicina Veterinaria. Sanidad Animal.
- Villa M.D., Pérez Sand, Lucio Decanini, E y González, E. «Evaluación de la aplicación de la vacuna inactivada contra el virus de la Bronquitis Infecciosa por aspersión en una parvada de pollo de engorde». *Investigación Aplicada*. (2002).