

*EFFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

Efecto De La Bursectomía Sobre La Respuesta Inmune (Humoral) Frente A La Enfermedad De  
Newcastle

Carlos Salazar y Oscar Buitrago

Universidad De Pamplona

Junio de 2020

Nota de los autores

Carlos Andres Salazar Perez, estudiante de Medicina Veterinaria, Universidad de Pamplona.

Oscar Darío Buitrago Lloreda, estudiante de Medicina Veterinaria, Universidad de Pamplona.

Enfermedades Infecciosas, Docente Jesús Alberto Mendoza Ibarra, Medicina Veterinaria, Universidad de Pamplona.

La correspondencia relacionada con este documento deberá ser enviada:

[ingdepacarlos@yahoo.es](mailto:ingdepacarlos@yahoo.es), [oscar.buitrago@unipamplona.edu.co](mailto:oscar.buitrago@unipamplona.edu.co) y  
[almendoza@unipamplona.edu.co](mailto:almendoza@unipamplona.edu.co)

*EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

EFECTO DE LA BURSECTOMÍA SOBRE LA REPUESTA INMUNE (HUMORAL) FRENTE

A LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE

CARLOS ANDRES SALAZAR PEREZ

88207856

OSCAR DARIO BUITRAGO LLOREDA

88250013

DIRECTOR:

PhD. JESÚS ALBERTO MENDOZA IBARRA

Trabajo de grado modalidad investigación, para optar por el título de Médico Veterinario

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA

PAMPLONA

2020

**DEDICATORIA**

A Dios Padre por permitirnos cumplir este proyecto

A mis Padres Rosa Lenis y Gerardo por apoyarme siempre en todo

A mi esposa Erly Johanna y mis hijas Mariana y Rosalid por ser mi combustible en la vida

A toda mi familia y amigos por impulsarme en mis estudios

Oscar

A nuestro Dios por su promesa cumplida.

A mi nona María luisa y mi nono Andrés por su formación.

Por su paciencia y apoyo a mi esposa Rosita y mi hija Gabriela y mi hijo Felipe.

A mis padres y familiares por su constante ayuda.

Carlos

**AGRADECIMIENTOS**

A Jesús Alberto Mendoza Ibarra, nuestro director por enseñarnos el amor por la investigación en ciencias animales desde los inicios de nuestra formación, por habernos regalado el mensaje de un mundo, una salud que marca nuestro compromiso como médico veterinario gracias infinitas.

A Leonardo Hernández Corredor, por ser además de un amigo un gran líder quien nos guío en este gran camino para formarnos como veterinarios, Dios te bendiga siempre.

A Leonardo Alvarado e Ingree Mosquera

A nuestros compañeros Ingenieros que iniciaron este viaje Tito Soto, Wilman Carrillo, Richard Baez, Pablo Pineda, Carlos Molina, Gennys Ruiz, Freddy Yoel Gómez, Jorge Rubio, Samir León, gracias por el apoyo y la paciencia durante nuestra formación, COLEGAS POR SIEMPRE

A nuestros docentes del departamento de veterinaria quienes iluminaron nuestro camino en momentos difíciles, Profe Jhon Jairo Bustamante, Carlos Felipe Duque, Dubel Celis, Yanet Vera, Irlanda Méndez, Melissa Casadiegos, Sonia Ibama González, Yeimer Santiago, Carlos Vargas, Karen Delgado, infinitas gracias por su paciencia y dedicación.

A Julián Molina por el gran apoyo que nos brindó durante el desarrollo de esta investigación

*EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

## Tabla de contenido

RESUMEN.....	ix
ABSTRACT .....	x
CAPÍTULO I.....	1
<b>1.1 Planteamiento del problema y Justificación</b> .....	1
<b>1.2 Objetivos</b> .....	4
<b>Objetivo general.</b> ....	4
<b>Objetivos específicos.</b> .....	4
CAPITULO II. ....	5
2.1 Introducción .....	5
2.2 Revisión bibliográfica .....	6
2.2.1 Estructura del sistema linfoide aviar. ....	6
2.2.2 Desarrollo del sistema inmune aviar. ....	7
2.2.2.1 Desarrollo bursal. ....	8
2.2.2.2 Anatomía e histología de la bolsa de Fabricio .....	8
2.2.3 Respuesta inmune de las aves .....	9
2.2.3.1 Respuesta inmune innata.....	9
2.2.3.2 Respuesta inmune adquirida.....	10
2.2.3.3 Inmunidad pasiva. ....	10
2.2.4 Virus de la Enfermedad Infecciosa de la Bursa .....	13
2.2.4.1 Vacunas contra la IBD .....	15
2.2.5 Virus de la enfermedad de Newcastle. ....	18
2.2.6 Experimentación con el virus de gumboro.....	19
2.2.7 Inhibición de la hemaglutinación (HI). ....	19
CAPITULO III .....	21
MATERIALES Y METODOS .....	21
3.1 Ubicación y caracterización del área experimental.....	21
3.2 Características y manejo de las unidades experimentales .....	22
3.3 Bursectomía.....	24
3.4 Metodología de campo .....	25
3.4.1 Titulación del antígeno de Newcastle por Hemaglutinación. ....	26
3.4.2 Control de Unidades Hemaglutinantes (UHA). ....	27

*EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

3.4.3 Prueba para el control de unidades hemaglutinantes. ....	27
3.4.4 Técnica de la inhibición de la hemaglutinación. ....	28
CAPITULO 4 .....	30
RESULTADOS .....	30
4.1 Análisis de la inhibición de la hemaglutinación.....	30
4.2 Análisis estadístico de los datos .....	31
DISCUSIÓN.....	33
CONCLUSIONES .....	36
RECOMENDACIONES .....	37
REFERENCIAS .....	38

*EFECTO DE LA BURSECTOMÍA***Lista de Figuras**

<i>Figura 1</i> Ubicación de la unidad experimental.	21
<i>Figura 2</i> Cría y levante de unidades experimentales.	23
<i>Figura 3</i> Distribución de las unidades experimentales	23
<i>Figura 4</i> Bursectomía Quirúrgica.	25
<i>Figura 5</i> Evaluaciones serológicas de la prueba inhibición de la hemaglutinación en la investigación.	30
<i>Figura 6</i> Diagrama de cajas agrupado de dilución por tratamientos.	32

*EFECTO DE LA BURSECTOMÍA***Lista de Tablas**

<u>Tabla 1</u> <i>Concentración de Ig en el plasma de la progenie.</i>	12
<u>Tabla 2</u> <i>Comparación de medianas por la prueba de Benferroni.</i>	31



## *EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

### **RESUMEN**

En la producción de pollos de engorde, la salud de la parvada tiene un aspecto primordial, en la búsqueda de obtener carne en el menor tiempo posible; la bolsa de Fabricio (BF) es el órgano linfoide encargado de la diferenciación de los linfocitos B, la injuria sobre este órgano representa el desempeño óptimo o no del lote. Con el objeto de evaluar la respuesta inmune humoral frente a la vacuna de Newcastle (ND), se realizó bursectomía total de la bolsa de Fabricio (B) y se compararon los perfiles serológicos utilizando la técnica de inhibición de la hemaglutinación [HI] con pollos no bursectomizados. Así, pollos de la línea ROSS AP fueron distribuidos en 5 tratamientos: T0= pollos sin vacuna y BF; T1= pollos B al día 21 y vacunados el día 22; T2= pollos BF y vacunados el día 22; T3= pollos B al día 28 y vacunados el día 29; T4= pollos BF y vacunados el día 29.

Los sueros fueron obtenidos por centrifugación en el laboratorio de Ciencias Biomedicas de la Universidad de Pamplona, y enviadas a un laboratorio comercial (SERVET S.A.S) para la prueba de HI (8 Unidades Hemoaglutinantes [AHU]). Al analizar los resultados obtenidos, los títulos de anticuerpos para la enfermedad de Newcastle, no existieron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos, entre las aves bursectomizadas y los controles, tomando en cuenta que las aves Bursectomizadas a los días 21 y 28 (T1 y T3), generaron seroconversión por la prueba de HI en los 35, 42 y 49 días respectivamente. Se puede concluir, que extraer la bolsa de Fabricio a partir del día 21 no compromete la respuesta inmune humoral para la enfermedad de Newcastle. Este hallazgo se explica por la función de la bolsa de Fabricio como órgano de maduración de linfocitos B, los cuales ya maduros empiezan a migrar desde la bolsa de Fabricio a los órganos linfoides secundarios como el bazo y a todos los agregados linfoides distribuidos en el organismo.

**Palabras clave: Bursectomía, Anticuerpos, Serología, Pollos, Vacuna.**

*EFECTO DE LA BURSECTOMÍA***ABSTRACT**

In the production of broilers, the health of the flock has an essential aspect, in the search to obtain meat in the shortest possible time; bursa of Fabricius (BF) is the lymphoid organ responsible for the differentiation of B lymphocytes, the injury to this organ represents the optimal performance or not of the batch. In order to assess the humoral immune response against the Newcastle vaccine (ND), a total bursectomy of bursa of Fabricius (B) was performed and the serological profiles were compared using the hemagglutination [HI] inhibition technique with chickens. not bursectomized. Thus, chickens from the ROSS AP line were distributed in 5 treatments: T0 = chickens without vaccine and BF; T1 = chickens B on day 21 and vaccinated on day 22; T2 = chickens BF and vaccinated on day 22; T3 = chickens B on day 28 and vaccinated on day 29; T4 = chickens BF and vaccinated on day 29.

The sera were obtained by centrifugation in the Biomedical Sciences laboratory of the University of Pamplona, and sent to a commercial laboratory (SERVET S.A.S) for the HI test (8 Hemagglutinating Units [AHU]). When analyzing the results obtained, the antibody titers for Newcastle disease, there were no significant differences between the different treatments, between the bursectomized birds and the controls, taking into account that the birds bursectomized on days 21 and 28 (T1 and T3), generated seroconversion by the HI test at 35, 42 and 49 days, respectively. We can conclude that removing bursa of Fabricius from day 21 does not compromise the humoral immune response for Newcastle disease. This finding is explained by the function of bursa of Fabricius as a maturing organ for B lymphocytes, which when mature begin to migrate from bursa of Fabricius to secondary lymphoid organs such as the spleen and to all lymphoid aggregates distributed in the body.

**Key words: Bursectomy, Antibodies, Serology, Chickens, Vaccine.**

## EFECTO DE LA BURSECTOMÍA

### CAPÍTULO I.

#### 1.1 Planteamiento del problema y Justificación

El sector avícola en Colombia presenta una producción anual de aproximadamente 10.193.316.975 unidades de huevos y 887.815 toneladas de carne. Para el año 2017 se reportó encasamientos correspondientes a 47.486.372 aves ponedoras comerciales y 767.442.539 pollos de engorde (FENAVI, 2018). Dentro de las enfermedades infecciosas que más impactan en la productividad avícola en el país se encuentra la enfermedad de Newcastle (ND), causada por un virus de la familia *Paramyxoviridae*, género *Avulavirus*, de reporte obligatorio. Entre las estrategias de prevención y control de la enfermedad se encuentra la vacunación de aves reproductoras, ponedoras comerciales y pollos de engorde que buscan generar inmunidad humoral y celular contra cepas velogénicas (altamente virulentas), mesogénicas (virulencia moderada) y lentogénicas (baja virulencia) (FENAVI, 2018).

Entendiendo que el pollo genera a través de sus órganos linfoides las células linfocíticas T y B, dependiendo del lugar donde se formen, siendo el timo y la BF respectivamente. La bolsa es el órgano linfoide primario donde se lleva a cabo la primera etapa de la diferenciación de los linfocitos B. Al menos el 98% de la población de linfocitos son de tipo B; éstos probablemente ingresan a los folículos a través de los capilares corticales, maduran y se diferencian en éstos. Pocas células T dispersas están presentes en los folículos. A medida que las células B maduran, abandonan la bolsa y se reubican en tejidos linfoides secundarios. La estimulación de los linfocitos B causada por antígenos, su respectiva proliferación y diferenciación son subsecuentes como células de memoria o células plasmáticas productoras de anticuerpos que se producen en órganos linfoides secundarios

### *EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

como: bazo, GALT, placas de Peyer entre otros (Villegas Narvaez et al., 2013).

Sin embargo, Glick et al., (1956) citado en Moticka (2016) determinaron que las tasas de crecimiento de las células de la bolsa del pollo de engorde crecen rápidamente durante las primeras tres semanas de vida. De ésta manera abordaron estudios funcionales mediante la eliminación de la bolsa durante esta fase del crecimiento. En consecuencia, realizaron bursectomías quirúrgicas en pollos poco después de la eclosión donde evaluaron su fisiología, centrándose en posibles actividades endocrinas; no encontraron diferencias entre los animales bursectomizados y los de control.

Aunque, Faragher et al. (1972), fueron los primeros investigadores en reportar los efectos inmunosupresores del virus de la enfermedad de Gumboro de acuerdo con la edad de la infección, cuando aplicaron la vacuna de la enfermedad de Newcastle concluyeron que la supresión de la respuesta de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Newcastle fue mayor en las aves infectadas al día 1 de edad. Cuando se infectaron los pollitos a los 7 días, la inmunosupresión fue moderada y, por último, cuando la infección se produjo entre los 14 y 21 días, los efectos fueron insignificantes.

Con respecto a la enfermedad de Gumboro, no existe un programa de vacunación que pueda ser recomendado de manera rutinaria. Los factores que influyen en la elaboración del programa de vacunación incluyen: 1) El tipo de ave a ser vacunada (pollo de engorde o ponedora comercial) 2) El nivel de inmunidad maternal. Cuanto mayor el valor inicial, mayor la edad de vacunación y 3) La uniformidad de la inmunidad maternal, de la cual depende si se hace necesaria una segunda vacunación para inmunizar efectivamente al lote. 4) Los tipos de vacuna a utilizar (Cserep, 2002).

### *EFFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

Las vacunas vivas contra la Enfermedad de Gumboro pueden ser administradas “en masa”. La aplicación por medio del agua de bebida es el método más común. La inherente patogenicidad de las vacunas vivas es una desventaja potencial. Esto es específico de las vacunas intermedias Plus y más aún para las cepas calientes, las cuales nunca deben ser aplicadas durante los primeros 10 días de edad. El daño en la bolsa de Fabricio (BF) puede resultar en inmunosupresión y puede afectar la efectividad de otras vacunas como la de Newcastle (Cserep, 2008).

## *EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

### **1.2 Objetivos**

#### **Objetivo general.**

Evaluar la respuesta inmune humoral frente a la vacuna de Newcastle en pollos bursectomizados.

#### **Objetivos específicos.**

Determinar el perfil serológico de pollos de engorde sometidos a bursectomía y vacunados contra la ND mediante la prueba HI en diferentes momentos.

Comparar los perfiles serológicos de los pollos bursectomizados con animales control vacunados contra la ND.

Determinar si existen diferencias significativas o no de los perfiles serológicos en pollos de engorde para los diferentes tratamientos (pollos bursectomizados vs pollos intactos).

**CAPITULO II.****2.1 Introducción**

La BF o Bursa como también se conoce es un órgano linfoepitelial presente en aves gallináceas como pollos, pavos, faisanes, urogallos, perdices y codornices. Aunque originalmente se describió en el siglo XVII, la función de este órgano permaneció desconocida hasta bien entrado el siglo XX. En 1956 cuando Glick y Chang, informaron que la eliminación de la bolsa de los pollos recién nacidos perjudicaba gravemente la producción de anticuerpos en los pollos adultos (Moticka, 2016).

Teniendo en cuenta la función de la bolsa en el desarrollo de linfocitos, aproximadamente al mismo tiempo (1956), Jacques Miller demostró el papel del timo en las aves, estimulando las preguntas sobre la ontogenia de la inmunocompetencia. Surgió en ese momento el concepto de órganos linfoides centrales versus periféricos (Davison, 2014).

Los órganos linfoides centrales son aquellos en los que los linfocitos maduran e incluyen el timo, la fuente de los linfocitos T y la médula ósea en mamíferos o la BF en las aves, la fuente de los linfocitos B. Los órganos linfoides periféricos, como el bazo y los ganglios linfáticos, son donde residen los linfocitos T y B maduros e inician respuestas inmunes adaptativas. Los pollos, a diferencia de los mamíferos, poseen una bolsa y un timo que pueden extirparse quirúrgicamente. Por lo tanto, proporcionan un modelo experimental único en el que los linfocitos T y B en desarrollo pueden manipularse individualmente (Moticka, 2016).

Es por ello que la inoculación de vacunas vivas contra el virus de la enfermedad infecciosa de la Bolsa (VIBD) da como resultado lesiones de gravedad variable en la BF; Las lesiones incluyen diferentes grados de depleción / necrosis de linfocitos en los folículos e infiltración por células heterofílicas, seguidas de fibrosis en los septos interfoliculares que conduce a la reducción del

## *EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

tamaño de los folículos y, por consiguiente, del tamaño de la bolsa. La estructura histológica de la bolsa después de la aplicación de la vacuna se recupera total o parcialmente, dependiendo de la gravedad del daño tisular sufrido en la fase aguda (Davison, 2014).

### **2.2 Revisión bibliográfica**

#### **2.2.1 Estructura del sistema linfoide aviar.**

El sistema linfoide aviar muestra diferencias significativas con el sistema de los mamíferos. Este está formado principalmente por dos órganos linfoides primarios que son el Timo y la Bolsa de Fabricio (BF). El timo conformado por varios lóbulos (6 o 7) que se encuentran íntimamente unidos a las venas yugular y el nervio vago; su función principal es la producción de los linfocitos T. Igualmente las aves presentan un órgano linfoide especial llamado BF donde se desarrollan y diferencian los linfocitos B, productores de anticuerpos. Estos dos órganos junto con la médula ósea, constituyen los llamados órganos linfoides primarios. Una vez producidas las células defensivas, estas se distribuirán en los órganos linfoides secundarios. Dentro de estos, se encuentran la glándula de Harder (rica en linfocitos B y células plasmáticas), el tejido linfoide asociado a mucosa intestinal (tonsilas cecales y placas de Peyer), tejido linfoide asociado a sistema respiratorio, bazo, nódulos linfáticos acapsulados tibiopoplíteos, etc (Villegas Narvaez et al., 2013).

La organización de estos tejidos linfoides en las aves es diferente a la de los mamíferos. Los tejidos linfomieloideos se desarrollan a partir de los ángulos epiteliales (BF y timo) o mesenquimales (bazo, ganglios linfáticos, médula ósea), que son colonizados por células hemopoyéticas transmitidas por la sangre. En el caso de los órganos linfoides centrales, las células madre hematopoyéticas ingresan en los anlagen tímicos o bursales y se desarrollan para



### *EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

convertirse en células T y B inmunológicamente competentes, respectivamente. Por lo tanto, las células T y B son de origen extrínseco, (Moore y Owen, 1965; Moore, 1967).

Teniendo en cuenta lo anterior, las células inmunológicamente maduras ingresan a la circulación y colonizan los órganos linfoides periféricos: bazo, ganglios linfáticos y tejidos linfoides relacionados con el intestino, los bronquios y la piel. Este proceso de periferia puede ser manipulado experimentalmente mediante intervenciones quirúrgicas o químicas. El desplazamiento de los linfocitos puede realizarse a través de las vénulas endoteliales altas (HEV), que se encuentran en las zonas dependientes de T de los órganos linfoides periféricos. En estos órganos, las células T y B ocupan diferentes compartimentos, llamados zonas dependientes de T y B, respectivamente (Oláh et al., 2014).

#### **2.2.2 Desarrollo del sistema inmune aviar.**

El embrión aviar ofrece varias ventajas para los estudios sobre el desarrollo del sistema inmune. Estos incluyen la existencia de una clara demarcación entre los sistemas de células B y T, y cada población se diferencia en un órgano linfoide primario especializado: las células T en el timo y las células B en la BF. Debido a su importancia para la industria avícola, mucha investigación sobre el sistema inmune aviar ha utilizado el pollo doméstico; esto ha sido ayudado por la disponibilidad inmediata de diferentes líneas congénitas y endogámicas, marcadores genéticos y anticuerpos monoclonales (mAb), las herramientas esenciales para estudiar el desarrollo del sistema inmune. Las quimeras de pollo de codorniz también han demostrado ser un modelo especialmente informativo, particularmente para estudiar la aparición de células madre hematopoyéticas (HSC) y su migración a los órganos linfoides primarios durante la embriogénesis (Fellah et al., 2014).

## *EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

### **2.2.2.1 Desarrollo bursal.**

La BF es un órgano linfoide primario en las aves que es responsable de la amplificación y diferenciación de los progenitores linfoides B dentro de su microambiente folicular (Fellah et al., 2014).

La bolsa ha sido importante gracias a su doble función en la respuesta inmunológica con un brazo dependiente del timo y un brazo humoral (dependiente de la bolsa) (Cooper et al, 1965; Glick et al, 1956). La extirpación quirúrgica de la bolsa durante el período embrionario temprano da lugar al deterioro del sistema inmune humoral. La bursectomía en embriones o pollos neonatos en etapa tardía causa una marcada reducción en el número de linfocitos B circulantes y una incapacidad para producir anticuerpos específicos en respuesta al desafío antigénico. Esto demuestra que la bolsa proporciona un microambiente único esencial para la proliferación y diferenciación de las células B (Glick et al., 1956; Houssaint et al, 1976).

### **2.2.2.2 Anatomía e histología de la bolsa de Fabricio.**

La BF en el pollo tiene la forma y el tamaño de una castaña y se encuentra entre la cloaca y el sacro. Un conducto bursal en forma de ranura proporciona una comunicación continua y libre entre el proctodeum y la luz de la bolsa. Como divertículo de la cloaca, la bolsa está revestida con un epitelio cilíndrico que se cree que es de origen endodérmico; sin embargo, un estudio experimental reciente propuso un origen ectodérmico (Nagy y Olah, 2010). La bolsa alcanza su tamaño máximo a las 8-10 semanas de edad; entonces, como el timo, sufre involución. A los 6-7 meses, la mayoría de las bolsas están muy involucionadas (Ciriaco et al, 2003).

Sin embargo, la bolsa, como otros órganos huecos, está rodeada por una capa muscular gruesa y lisa. Los estudios generalmente descuidan esta capa muscular, y su contractilidad no se considera en la función de la bolsa. Durante la contracción muscular, la compresión de los

### *EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

folículos puede promover el flujo de células dentro de la médula y contribuir al vaciado de los vasos linfáticos situados en el eje de los pliegues. En la luz de la bolsa, surgen 15-20 pliegues longitudinales, lo que da como resultado un espacio en forma de hendidura. Durante la contracción muscular, las superficies de los pliegues entran en contacto entre sí, por lo que la luz de la bolsa es casi un espacio virtual. Dentro de cada pliegue, los folículos se organizan en dos capas separadas por estructuras axiales (arterias, venas, tejidos linfáticos y conectivos). En consecuencia, los folículos están en contacto con la sangre y los vasos linfáticos, así como con la luz de la bolsa. En uno de los pliegues ventrales, se puede formar tejido linfoide periférico (secundario) (Nagy y Olah, 2010)

### **2.2.3 Respuesta inmune de las aves**

El sistema inmune no solo es crítico en la defensa de las aves contra la exposición natural de patógenos, sino también en la inducción de la inmunidad protectora como respuesta a la administración de vacunas (Guerrero, 2015).

#### **2.2.3.1 Respuesta inmune innata**

La respuesta inmune innata incluye una serie de componentes y mecanismos: piel y faneras (plumas) que impiden el acceso de los patógenos al ave, así como mecanismos innatos a nivel de las mucosas que permiten la identificación e impiden el paso de los microbios. Entre las células que llevan a cabo las respuestas de inmunidad innata destacan fagocitos como los heterófilos, que sustituyen a los neutrófilos presentes en los mamíferos, las plaquetas que cumplen funciones fagocíticas, los macrófagos que se constituyen en el eslabón que conecta la respuesta inmune innata con la adquirida y las células NK (*Natural Killer*) (Guerrero, 2015).

## *EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

### **2.2.3.2 Respuesta inmune adquirida**

Las células mediante la inmunidad adaptativa específica retienen “memoria” de su encuentro con el patógeno aún después de la eliminación de este del cuerpo y la finalización de la respuesta inmunológica frente al mismo. La inmunidad adaptativa es altamente específica para el agente que estimuló su desarrollo y es costosa para el ave por el gasto metabólico que conlleva. La inmunidad adaptativa es mediada por una variedad de células de las cuales las más importantes son las células B y T y las presentadoras de antígeno como los macrófagos y células dendríticas (Guerrero, 2015).

Los linfocitos B son los encargados de la producción de anticuerpos específicos por lo que se constituyen en el componente de la respuesta inmune más conocido y evaluado por los técnicos avícolas. Los linfocitos T pueden dar lugar tanto a respuestas de inmunidad celular, llamada Th1, como de inmunidad humoral o Th2. Respuesta Th1 y Th2 A finales de la década de los ochenta se describieron dos subgrupos de linfocitos *T helper* (colaboradores) atendiendo al patrón de citoquinas que producían, y se les denominó *T helper 1* (Th1) y *T helper 2* (Th2). En respuesta a la estimulación antigénica, los linfocitos Th1 producen interleucina-2 (IL2) e interferón  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), estimulando la inmunidad mediada por células. Los linfocitos Th2 por su parte producen IL-4, IL-5 e IL-10, favoreciendo la inmunidad humoral (Guerrero, 2015)

### **2.2.3.3 Inmunidad pasiva.**

Según Balaguer, (2008), los anticuerpos maternos (MDA), del inglés *Maternal Derived Antibodies*—, o también conocidos como Inmunidad Pasiva, son la transferencia natural de inmunoglobulinas de un individuo a otro. En las aves, los anticuerpos maternos pasan desde reproductoras hiperinmunizadas o infectadas de manera natural a la progenie a través del huevo. Esta inmunidad pasiva tiene relativamente corta duración, normalmente 1 ó 2 semanas y, en

### *EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

general, menos de 4 semanas y su función es proteger a las aves jóvenes durante sus primeras semanas de vida, mientras su sistema inmune no está completamente desarrollado de cara a reaccionar y protegerse frente a una exposición temprana.

No obstante, la gallina transfiere MDA al huevo al depositar los anticuerpos IgY, IgA e IgM en la yema y albumen. Como la molécula IgG de las aves es más larga que la de los mamíferos, algunos autores la denominan IgY. Sin embargo, la IgG de las aves —o IgY—, a pesar de su diferencia molecular, es funcionalmente homóloga a la IgG de los mamíferos (Del Tordello et al., 2016). El sistema por el cual las inmunoglobulinas se transfieren al huevo difiere entre los diferentes tipos.

Por lo tanto, como una gallina tiene al mismo tiempo diferentes huevos en diferentes fases de desarrollo, la cantidad de IgY transferida a cada uno no es la misma. Las IgA e IgM se encuentran principalmente en el albumen (Rose et al., 1974, citado por Balaguer, 2008) y son transferidas al albumen como resultado de una secreción mucosa en el oviducto, y más concretamente en el Magno. La IgY es transferida desde la yema del huevo al embrión a través de la circulación embrionaria. La transferencia comienza desde el día 7 del desarrollo embrionario y alcanza el nivel máximo 3 a 4 días antes de la eclosión.

Teniendo en cuenta que la cantidad de IgY transferida a la yema y desde ésta al embrión es proporcional a la concentración de IgY en el suero de la reproductora. En un trabajo realizado por Hamal en el año 2006 se encontró que entre un 27 y un 30% del nivel de IgY de la gallina es transferido al embrión (Tabla 1).

## EFECTO DE LA BURSECTOMÍA

**TABLA 1.**

*Concentración de Ig en el plasma de la progenie (%) en el plasma maternal.*

<b>Tipo de anticuerpo</b>	<b>Reproductora Línea 1</b>	<b>Reproductora Línea 2</b>
<b>IgY</b>	31,7 ± 3,79	26,2 ± 3,15
<b>IgA</b>	0,66 ± 0,13	0,90 ± 0,11
<b>IgM</b>	0,74 ± 0,06	0,96 ± 0,09

*Nota: Hamal et al., (2006).*

Los anticuerpos frente al virus de Newcastle que provienen de las reproductoras proporcionan protección a las aves jóvenes. Hamal et al., (2006) encontraron que el nivel de anticuerpos específicos frente a este patógeno. Los niveles de IgA e IgM son transferidos al embrión por la absorción del albumen a través del intestino embrionario y pueden tener su función principal en el pollito recién nacido como inmunoglobulinas protectoras en el tracto digestivo o incluso como fuente de proteína adicional.

No obstante, la cantidad de IgA e IgM transferida a la descendencia es menor del 1% de la concentración de estas inmunoglobulinas en el plasma de las gallinas (Tabla 1). Además de este bajo porcentaje transferido, la IgY es transferida desde la gallina a la progenie oscila entre un 27 y un 40 % y está relacionado directamente con los títulos en la gallina. La IgY también la podemos encontrar en la secreción ocular del ave de un día con una proporción 1:5 respecto del nivel en el suero.

De este modo, los MDA anti- virus de ND empiezan a ser catabolizados tan pronto el pollito nace. De acuerdo con Allan et al., (1978), cada 4,5 días hay una reducción a la mitad de los títulos medidos por HI.

Es por ello, que la protección proporcionada por los MDA anti-NDV también interfiere con la replicación sistémica de las cepas vacunales si son aplicadas en presencia de un nivel alto de

## *EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

MDA. Por tanto, el objetivo de la vacunación al día de vida con una vacuna viva es, como se mencionó anteriormente, conseguir una primovacunación eficiente, estimular la inmunidad celular en el tracto respiratorio superior e inducir una protección temprana en aves con un bajo nivel de MDA.

Por esto, las vacunas inactivadas de tipo oleoso han sido empleadas con éxito en pollos de 1 día con inmunidad maternal en la prevención de la enfermedad de Newcastle (Wood et al, 1981). Las mayores ventajas de estas vacunas inactivadas son los bajos niveles de reacciones adversas en aves vacunadas y los altos niveles de anticuerpos protectores de larga duración que se pueden alcanzar (Alexander et al., 2008).

Además, estas vacunas inactivadas de tipo oleoso no se afectan de manera tan adversa por la inmunidad maternal como las vacunas vivas Box et al., (1976) debido a que el adyuvante oleoso actúa como estimulante de los mecanismos de defensa y dispersa los antígenos lentamente. En estas circunstancias, hay una estimulación progresiva de la inmunidad activa mientras la inmunidad pasiva disminuye y el sistema inmune alcanza "total autonomía" (Box et al., 1976, Alexander y Jones, 2003).

### **2.2.4 Virus de la Enfermedad Infecciosa de la Bursa**

La enfermedad infecciosa de la bursa (del inglés, infectious bursal disease o IBD) es una enfermedad inmunosupresora de pollos jóvenes de prevalencia mundial. Es causada por el virus de la IBD (VIBD), un *birnavirus* de ARN bicatenario que es altamente resistente a las condiciones ambientales adversas. Se han descrito dos serotipos del virus (serotipos 1 y 2) y se han reconocido variantes antigénicas de ambos serotipos. Sin embargo, solo los virus del serotipo 1 son patógenos y se han descrito múltiples patotipos del serotipo 1. La enfermedad podría provocar una alta morbilidad y mortalidad. Además, el efecto inmunosupresor de la enfermedad

### *EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

disminuye la resistencia del ave a otras infecciones y reduce la capacidad de respuesta a las vacunas de uso común (Swayne, 2020).

La IBD se describió por primera vez en el año 1962 y se denominó "nefrosis aviar" debido al daño renal extremo que se encontró en las aves que sucumbieron a la infección. Dado que los primeros brotes ocurrieron en el área de Gumboro, Delaware; la "enfermedad de Gumboro" sigue siendo un sinónimo frecuente de esta enfermedad. La importancia económica de esta enfermedad se manifiesta de dos maneras. Primero, algunas cepas de virus pueden causar hasta un 60% de mortalidad en pollos de 3 semanas de edad y mayores. La segunda manifestación, y más importante, es una inmunosupresión severa y prolongada de pollos cuando se infectan a una edad temprana. Las secuelas que se han asociado con la inmunosupresión inducida por el virus incluyen dermatitis gangrenosa, síndrome de inclusión de hepatitis y anemia, infecciones por *Escherichia coli* y fallas de vacunación. La protección de los pollitos contra la infección temprana es primordial. Esto generalmente se logra mediante una combinación de transferencia de anticuerpos maternos y la inmunización activa del pollito recién nacido. El virus no afecta a los humanos y no tiene importancia para la salud pública (Etteradossi y Saif, 2020).

Los signos clínicos no son patognomónicos, pero las lesiones macroscópicas y microscópicas son altamente sugestivas de la enfermedad. Las lesiones macroscópicas observadas principalmente en la BF incluyen agrandamiento, cambio de color y hemorragias seguidas de atrofia. Otras lesiones graves pueden incluir hemorragias en los músculos de la pechuga y las piernas. Las lesiones microscópicas de la bolsa incluyen necrosis de linfocitos seguida de aparición de heterófilos. Además, el examen microscópico de las secciones de la bolsa infectadas con IBD a menudo revela cavidades hemorrágicas y quísticas. El virus puede propagarse en huevos de gallina embrionados y en una variedad de líneas celulares primarias y establecidas. Sin



### *EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

embargo, el aislamiento del virus no es práctico para el diagnóstico de rutina. Los homogenados de la bolsa son el material preferido para la detección de virus y actualmente RT-PCR es la prueba preferida para la detección de virus / ARN. Los kits comerciales de ELISA están disponibles para la detección de anticuerpos, pero la neutralización del virus es la única prueba que puede distinguir los serotipos y sus variantes (Swayne, 2020).

#### **2.2.4.1 Vacunas contra la IBD**

La inmunización de los pollos es el principal método utilizado para la prevención de la IBD en las aves comerciales y se han revisado las vacunas contra la IBD (Müller et al., 2012). Hay muchas opciones de vacunas vivas disponibles en función de la virulencia y la diversidad antigénica. Con respecto a la virulencia, las vacunas disponibles en los mercados se clasifican en leves, leves intermedias, intermedias, intermedias plus o "calientes". Las vacunas que contienen variantes, ya sea en combinación con cepas clásicas o solas, también están disponibles (Swayne, 2020).

Las cepas altamente virulentas (calientes), intermedias y avirulentas rompen los títulos de anticuerpos maternos por neutralización viral de 1: 500, 1: 250 y menos de 1: 100, respectivamente. Las cepas intermedias varían en su virulencia y pueden inducir atrofia de la bolsa e inmunosupresión en pollos SPF de 1 día y de 3 semanas. Si los títulos de anticuerpos maternos VN son menores de 1: 1000, los polluelos pueden vacunarse mediante inyección con cepas de virus avirulentas. Algunos virus vacunales se replican en el timo, el bazo y la bolsa cloacal, donde persisten durante dos semanas. Después de que el anticuerpo materno se cataboliza, hay una respuesta de anticuerpo primario al virus de vacuna persistente (Etteradossi y Saif, 2020).

Las vacunas de virus muertos generalmente no son prácticas o deseables para inducir una respuesta primaria en pollos jóvenes, sin embargo, a veces se ha informado la inyección de una fracción de una dosis en pollos de engorde o pollitas entre uno y diez días de edad (Wyeth et al.,

### *EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

1992). Las vacunas oleosas son más efectivas en pollos que han sido "cebadados" con virus vivos, ya sea en forma de vacuna o en exposición al virus de campo. Las vacunas oleosas actualmente pueden contener cepas clásicas y variantes del virus IBD. Se recomienda el perfil de anticuerpos de las parvadas reproductoras para evaluar la efectividad de la vacunación y la persistencia de anticuerpos (Etteradossi y Saif, 2020).

La vacunación *in ovo* de pollos para la IBD y otros agentes a los 18 días de incubación (Gagic et al., 1999; Whitfill et al., 1995) es una técnica que ahorra trabajo y puede proporcionar una forma para que las vacunas eviten los efectos de los anticuerpos maternos e inicien una respuesta inmune primaria. El material inyectado es una vacuna viva contra la IBD. La inyección *in ovo* de una vacuna intermedia contra la IBD sola experimentalmente resultó en una recuperación más rápida de las lesiones de la bolsa, en comparación con la vacunación después de la eclosión, y tuvo una protección similar contra el desafío (Rautenschlein y Haase, 2005).

Finalmente, se han reportado vectores vivos de virus recombinantes que expresan inmunógenos de IBD, conocidas como vectorizadas. Estos incluyen el virus de la viruela aviar (Bayliss et al., 1991), el Herpevirus de Pavo (HVT) (Darteil et al., 1995), el virus de la enfermedad de Marek (Tsukamoto et al., 1999), el adenovirus de pollo (Francois et al., 2004) y el virus de la enfermedad de Newcastle (Huang et al., 2004). Los virus vacunales recombinantes adicionales incluyen vacunas contra la IBD que se han modificado para ampliar su espectro antigénico (Mundt et al., 1995) o para permitir la diferenciación de los anticuerpos inducidos por la vacuna (Boot et al., 2002). Las vacunas recombinantes actualmente disponibles en el mercado se derivan de HVT e inducen una respuesta activa de anticuerpos anti-IBD incluso frente a altos niveles de anticuerpos neutralizantes derivados de la madre (Goutebroze et al., 2003).

### *EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

No se puede ofrecer un programa de vacunación universal debido a la variabilidad en la inmunidad materna, el manejo y las condiciones operativas que existen. Si se alcanzan altos niveles de anticuerpos maternos y se reduce el desafío de campo, entonces la vacunación de pollos de engorde puede no ser necesaria. El momento de la vacunación con vacunas atenuadas e intermedias varía desde siete días hasta dos o tres semanas. Si los pollos de engorde se vacunan al primer día de edad, la vacuna contra la IBD se puede administrar mediante inyección junto con la vacuna contra la enfermedad de Marek. Puede ser necesario cebar los pollos de reemplazo de los reproductores, y muchos productores vacunan con una vacuna viva a las 10–14 semanas de edad. Las vacunas oleosas muertas se administran comúnmente a las 16-18 semanas. Puede ser necesaria la revacunación de los reproductores si el perfil de anticuerpos indica una caída importante en los títulos de los lotes (Swayne. 2020).

Teniendo en cuenta lo anterior, Camilotti et al., (2016) evaluaron la patogenicidad e inmunogenicidad de tres tipos de vacunas contra la IBD. En total, se inmunizaron 220 pollos libres de patógenos específicos (SPF) de un día de edad con vacunas recombinantes, inmunocomplejas e intermedias, o no se vacunaron (55 aves por grupo) y se retaron con cepa IBD G11 el día 25, los días 25, 30 y 35, la BF se sometió a un examen general e histológico y las muestras de suero se sometieron a la prueba de ELISA a títulos de anticuerpos anti-IBD determinados.

El día 23, los pollos se sometieron a la prueba de hipersensibilidad a la fitohemaglutinina para evaluar el efecto inmunosupresor de las vacunas en la inmunidad celular. Los resultados indicaron que la vacuna de inmunocomplejo indujo las lesiones más graves de bolsa, mientras que la vacuna recombinante conservó la integridad celular y de los tejidos de la bolsa. Las tres vacunas evaluadas indujeron inmunidad humoral de intensidad similar. La reacción celular a la

### *EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

fitohemaglutinina de los pollos inmunizados con vacunas recombinantes e inmunocomplejas fue menos severa en comparación con los pollos no vacunados. En conclusión, estos resultados indican que la vacuna del complejo inmunitario fue la más patógena y que todas las vacunas fueron efectivas para proteger a los pollos SPF contra la IBD (Camilotti et al., 2016).

#### **2.2.5 Virus de la enfermedad de Newcastle.**

El virus de Newcastle pertenece a la familia *Paramyxoviridae*, serotipo 1 (PMV-1); es envuelto, no segmentado, de ARN de cadena sencilla y polaridad negativa, con tres tamaños de genomas reportados: 15.186, 15.192 y 15.198 nucleótidos. Se ha clasificado el virus en 18 genotipos con base en la variación genética de genes conservados, lo que ha proporcionado información sobre su distribución global y sobre las relaciones epidemiológicas. Por medio de diversos estudios se han caracterizado seis proteínas estructurales: nucleocapside (NP), fosfoproteína (P), proteína de la matriz (M), proteína de fusión (F), lo que ha facilitado el desarrollo de vacunas vivas e inactivadas, para realizar la inmunización activa de las poblaciones avícolas (Ganar et al., 2014; Dimitrov et al., 2017).

La ND se ha clasificado en tres grupos en función de su nivel de virulencia: lentogénico (baja virulencia), mesogénico (virulencia moderada) y velogénico (alta virulencia). En la forma con menor virulencia, la sintomatología en las aves se caracteriza por problemas respiratorios que conducen a infecciones bacterianas secundarias. A medida que incrementa su virulencia se observan manifestaciones en el sistema nervioso, como parálisis, torsión de cuello; en los sistemas gastrointestinal y reproductivo causando inmunosupresión, hemorragias, necrosis, producción disminuida o nula de huevos, hasta la muerte del ave (Miller et al., 2007).

## *EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

### **2.2.6 Experimentación con el virus de gumboro.**

Marino y Hanson, (1987) evaluaron la respuesta celular y humoral en pollos bursectomizados *in ovo* frente al desafío experimental con virus velogénico de la ND; para esto, utilizaron pollos deficientes en inmunidad humoral, bursectomizados *in ovo*, estos fueron vacunados dos veces con la cepa Roakin, dejando un mes de intervalo entre las vacunaciones. Los pollos fueron luego desafiados con virus velogénico viscerotrópico por vía oro nasal. Los resultados obtenidos en las pruebas de inhibición de la hemaglutinación y seroneutralización mostraron que los pollos bursectomizados tenían reducida la inmunidad mediada por anticuerpos a la infección con el virus. En contraste, la inmunidad mediada por células fue significativamente mayor antes del desafío. Este tipo de inmunidad se determinó mediante la capacidad blastogénica de los linfocitos sanguíneos periféricos inducida con fitohemaglutinina y mediante la estimulación con antígeno específico. Después del desafío, hubo una inhibición transitoria de la inmunidad celular basada en una reducción pronunciada en los índices de estimulación.

Esta inhibición en la inmunidad celular fue evidenciada por la persistencia del virus por más tiempo en los pollos bursectomizados. Los pollos bursectomizados resistieron el desafío a pesar de tener títulos de anticuerpos muy por debajo de los que normalmente se consideran necesarios para resistir el desafío. Esto sugiere que la inmunidad celular provee cierta resistencia frente al virus velogénico de la enfermedad de Newcastle.

### **2.2.7 Inhibición de la hemaglutinación (HI).**

La prueba se basa en la capacidad de aglutinar glóbulos rojos de algunas bacterias, virus y micoplasma. La aglutinación puede ser espontánea, como en el virus de ND, o con inducción enzimática por Fosfolipasa C, como se realiza para el virus de Bronquitis (Cruz,1999).

Esta prueba mide el título de anticuerpos de un suero problema, el título se reporta como

### *EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

la máxima dilución del suero en la que se exhibe una completa inhibición de la hemaglutinación y que corresponde a la máxima dilución en la que se detectaron anticuerpos, el valor obtenido no es un número absoluto. Normalmente, el título es expresado en el factor de dilución utilizado (ó en el logaritmo correspondiente). Por ejemplo  $4 \log_{10}$ ,  $8 \log_2$  (Moreno, 2000).

Por consiguiente, los anticuerpos humorales son detectados entre 7 y 10 días posteriores a la exposición inicial de los animales con un virus y los títulos alcanzan un nivel máximo a las 4 semanas después de la exposición, posteriormente estos títulos comienzan a disminuir si las aves no son expuestas nuevamente al virus de campo o vacunal (Moreno, 2000).



## *EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

### **3.2 Características y manejo de las unidades experimentales**

Se adquirieron 102 pollitos machos sin vacunas de la línea ROSS AP de 1 día de edad, se procedió con su proceso zootécnico de crianza proporcionándoles las condiciones adecuadas para su crecimiento durante los días de duración de la investigación; al día 4 de edad, se seleccionaron al azar 26 pollitos a los cuales se les tomó muestra de sangre de la vena ulnar con el objetivo de evaluar los anticuerpos maternos contra la enfermedad de Newcastle; los primeros 15 días fueron alojados en jaulas criadoras (Figura 2) y posteriormente fueron asignados aleatoriamente en cubículos de 50cm de ancho por 100 cm de longitud ubicados en un galpón de 2.5 mtrs x 4 mtrs, se instalaron bebederos automáticos de copa y comederos tipo come babys, el alimento comercial y el agua se suministró *ad libitum* (Figura 3).

La distribución aleatoria de los tratamientos se realizó de la siguiente manera:

T0= pollos sin vacuna y con BF

T1= pollos B al día 21 y vacunados el día 22.

T2= pollos con BF y vacunados el día 22. (Control)

T3= pollos B al día 28 y vacunados el día 29.

T4= pollos con BF y vacunados el día 29. (Control)

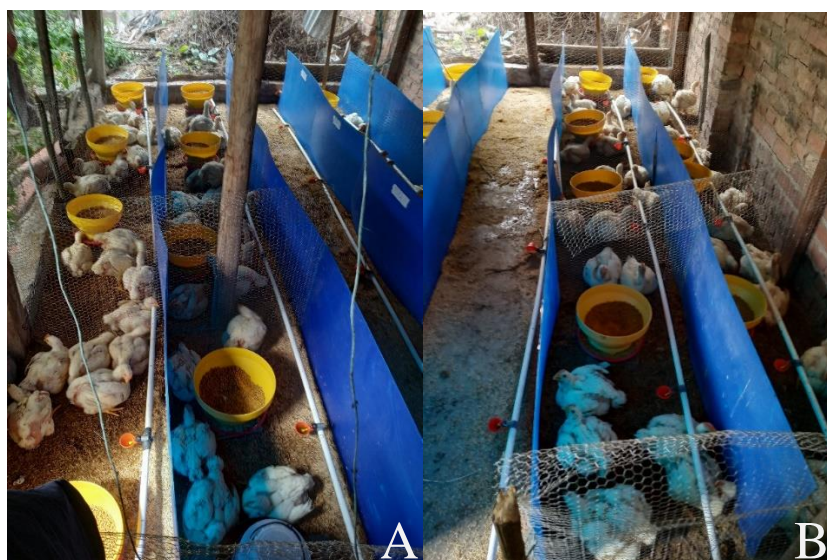
Cada tratamiento estuvo conformado por 4 repeticiones y cada repetición por 5 unidades experimentales, para un total de 20 unidades experimentales por tratamiento.



## EFFECTO DE LA BURSECTOMÍA



**Figura 2.** Cría y levante de unidades experimentales.  
Nota: Autores, 2020



**Figura 3.** A-B. Distribución de las unidades experimentales. En A y B se observa la distribución aleatoria de las unidades experimentales según el diseño, con 5 aves por cubículo.  
Nota: Autores, 2020

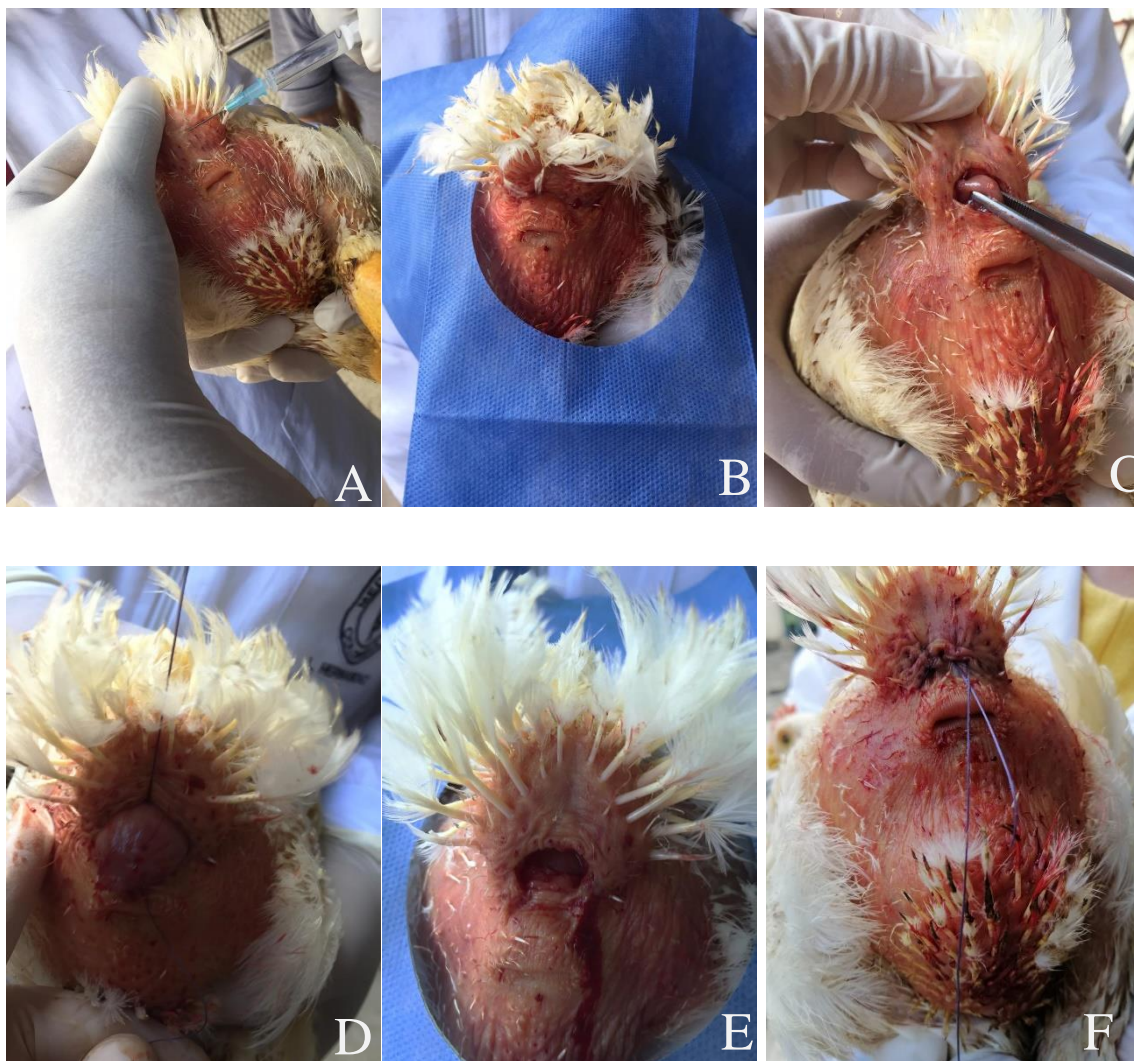
## *EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

### **3.3 Bursectomía**

El procedimiento quirúrgico para la disección de la bolsa se realizó siguiendo el procedimiento de Glick y Oláh (1984) a los 21 y 28 días de edad para los tratamientos 1 y 3 respectivamente (Figura 4).

Las aves se sedaron con pentobarbital, (20 mg/Kg, IV). Se embroco, la parte caudal, en la region ventral del pigostilo y dorsal a la cloaca, se procedió a retirar los primordios de las plumas. Luego se inyectó Lidocaina al 2 %, en la zona embrocada. Con un bisturí mango N° 4, y hojilla N° 18 se realizó la insición con una longitud de 3 cm, en la zona insensibilizada, luego con ayuda de una pinza de Allis, se ubicó la BF, tomándola por la cara posterior de la misma, haciendo la reversión y su exposición para hacer la extracción, con Vicril N° 2-0. Se anudó y se separó. La herida se suturó en forma de U con Vicril N° 2-0. Se aplicó crema con sulfatiazina de plata y neomicina en la herida. Por 3 días se trataron con Fosfomicina (5 mg/Kg) en el agua de bebida.

## EFFECTO DE LA BURSECTOMÍA



**Figura 4.** Bursectomía Quirúrgica. **A.** Anestesia local con Lidocaína al 2%; **B.** Embrocado de la zona quirúrgica; **C.** Incisión por encima de la cloaca; **D.** Exteriorización y ligado de la bursa con sutura monofilamento sintética reabsorbible; **E.** Verificación de ausencia de hemorragia; **F.** Sutura de capa muscular, tejido subcutáneo y piel.

*Nota:* Autores, 2020

### 3.4 Metodología de campo

Para la toma de las serologías, se criaron en la granja familiar, 102 aves de la línea Ross AP. Se tomaron 10 aves para la toma inicial, por medio de punción al corazón, con una aguja calibre 25, se colectó 0,5 ml de sangre por ave, colectando en tubos eppendorf de 1 mL, después se llevaron a los laboratorios Ciencias Biomedicas de la Universidad de Pamplona, donde se

### *EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

procedió a centrifugar las muestras, se obtuvo el suero para la determinación de anticuerpos, por medio de la prueba de HI.

El lavado de glóbulos rojos (GR) se determinó por medio del procedimiento descrito por Bennington (1991), brevemente a 3 ml de sangre con anticoagulante (EDTA), se adicionaron 3 ml de NaCl 0,9 % y se centrifugó a 2500 RPM por 5 minutos (Centrifuga Dynac III®, Becton Dickinson, USA), el sobrenadante fué desechado quedando solo los GR (el procedimiento se repitió por tres veces,) de allí se extrajo 30 µl y se adicionaron a 2.97 ml de suero fisiológico (NaCl 0,9 %) quedando una solución de GR al 1 %.

#### **3.4.1 Titulación del antígeno de Newcastle por Hemaglutinación.**

Para la titulación del antígeno se siguieron los pasos a continuación:

- a. En una microplaca de fondo “U” se adicionarón 50 microlitros de PBS 1X, pH: 7.0-7.2, desde la celda 1 hasta la 12.
- b. Se adicionaron 50 microlitros de antígeno de Newcastle en la celda 1.
- c. Luego se mezclaron y con una micropipeta se pasaron 50 microlitros de la celda 1 a la celda 2 y así sucesivamente hasta la celda 12, al final se descartaron los últimos 50 microlitros.
- d. Se adicionaron 50 microlitros de glóbulos rojos de pollo al 1% a toda la microplaca.
- e. En otra fila de la microplaca, se adicionaron 50 microlitros de PBS 1X, pH: 7.0-7.2 y 50 microlitros de glóbulos rojos de pollo al 1%. Este fué el control de glóbulos rojos.
- f. Se incubó la microplaca durante 45 minutos a temperatura ambiente (25 - 28 °C).
- g. La lectura: el título hemaglutinante del antígeno fué determinado por el recíproco de la dilución más alta en donde se observó la hemaglutinación completa.

## *EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

### **3.4.2 Control de Unidades Hemaglutinantes (UHA).**

Una unidad hemaglutinante es la mínima cantidad de antígeno que se requiere para producir hemaglutinación completa de los glóbulos rojos. Para esta técnica se utilizan 8 unidades hemaglutinantes (UHA), se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$V_1 * C_1 = V_2 * C_2$$

En donde:

$V_1$ : Volumen del antígeno de Newcastle.

$C_1$ : Título hemoaglutinante del virus de Newcastle.

$V_2$ : Volumen a preparar de la solución de antígeno.

$C_2$ : Unidades de hemaglutinación.

Ejemplo: ¿Para preparar 10 ml de antígeno con 8 UHA a partir de título hemoaglutinante de 128?

$$V_1: \frac{10 \text{ ml} * 8 \text{ UHA}}{128} = 0.625 \text{ ml de antígeno concentrado}$$

$$\text{PBS 1X} = 10 \text{ ml} - 0.625 \text{ ml}$$

$$\text{PBS 1X} = 9.375 \text{ ml}$$

Lo anterior equivale que para preparar 10 ml de antígeno con 8 UHA, se requiere 9.375 ml de PBS 1X y 0.625 ml de antígeno concentrado.

### **3.4.3 Prueba para el control de unidades hemaglutinantes.**

Para la prueba se tuvieron en cuenta los siguientes pasos:

### *EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

- a. Se adicionaron 100 microlitros de la solución de antígeno de 8 UHA en la celda 1.
- b. Luego se agregaron 50 microlitros de PBS 1X desde la celda 2 hasta la celda 12.
- c. Además, se tomaron 50 microlitros de la celda 1 a la celda 2, mezclar y pasar nuevamente 50 microlitros de la celda 2 a la 3 y así hasta la celda 12, al final se descartaron los últimos 50 microlitros.
- d. Se añadieron 50 microlitros de glóbulos rojos de pollo al 1% a toda la microplaca.
- e. Luego se incubó la microplaca durante 45 minutos a temperatura ambiente (25 – 28 °C).
- f. Para la lectura: se observó la aglutinación hasta la dilución en donde hay un (1) UHA.

#### **3.4.4 Técnica de la inhibición de la hemaglutinación.**

En la técnica se continuaron los siguientes pasos:

- a. En una microplaca de fondo “U” se colocaron 50 microlitros de la solución de PBS 1 %.
- b. Se adicionaron 50 microlitros del suero problema en la celda 1 y se mezcló.
- c. Luego se pasaron 50 microlitros de la celda 1 a la celda 2, se mezcló de allí se pasaron a la celda 3 y así sucesivamente hasta la celda 12, al final se descartaron los últimos 50 microlitros. De esta manera se empezó con una dilución de 1: 2 y se continuó con diluciones dobles seriadas.
- d. A cada celda se le añadió 8 UHA de virus/antígeno (50 microlitros).
- e. Se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente (25 –28°C).
- f. Se adicionaron 50 microlitros de glóbulos rojos de pollo al 1% a toda la microplaca.
- g. Se procedió a incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente.

*EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

h. Para la lectura: el título de anticuerpos contra el virus de Newcastle se correspondió al recíproco de la dilución más alta donde se observó la hemaglutinación completa. Esta lectura se hizo inclinando la microplaca y observando la formación de una gota en forma de lágrima.

Adicional a las muestras problemas se incluyó un suero control negativo y un suero control positivo, los cuales se procesaron de la misma forma que los anteriores. Además, se incluyó el control de glóbulos rojos (50 microlitros de PBS 1X más 50 microlitros de la suspensión de glóbulos rojos al 1%).

## EFECTO DE LA BURSECTOMÍA

### CAPITULO 4

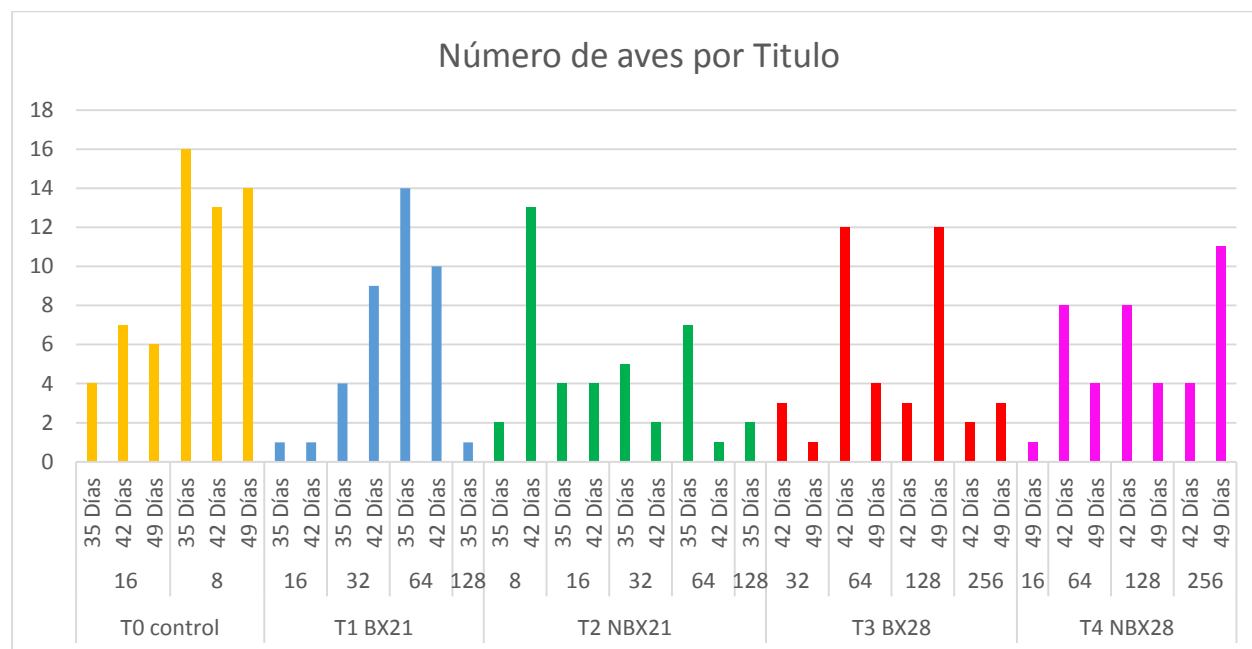
#### RESULTADOS

Cabe destacar que a pesar de realizarse un procedimiento mínimamente invasivo, los pollos bursectomizados no presentaron infección postquirúrgica ni mortalidad.

La inmunización contra Newcastle se realizó con vacuna viva, cepa La Sota, aplicando una gota en el ojo a cada pollo. Se tuvo especial cuidado con la cadena de frío de la vacuna para garantizar su viabilidad al momento de la aplicación.

#### 4.1 Análisis de la inhibición de la hemaglutinación

Las serologías entregadas por el laboratorio SERVET S.A.S. se encuentran en los anexos, en la Figura 5. Se observa el resumen de la evaluación serológica.



**Figura 5.** Resumen de las evaluaciones serológicas de la prueba inhibición de la hemaglutinación en la investigación. **T0 control:** Pollos sin vacuna y con BF; **T1 BX21:** Pollos bursectomizados al día 21 y vacunados el día 22; **T2 NBX21:** Pollos con BF y vacunados el día 22. (Control); **T3 BX28:** Pollos bursectomizados al día 28 y vacunados el día 29; **T4 NBX28:** Pollos con BF y vacunados el día 29. (Control).

Nota: Autores, 2020



## EFECTO DE LA BURSECTOMÍA

### 4.2 Análisis estadístico de los datos

Una vez los datos fueron agrupados, se llevaron al software SPSS v 24.0, se realizó una prueba de normalidad por el Test de Kolmogorv-Smirnov, los resultados sugieren un modelo de análisis no paramétrico; por lo tanto, se utilizó el modelo de Kruskal-Wallis, con una prueba de comparación de medianas de Bonferroni.

La prueba de Kruskal-Wallis no mostro diferencias significativas ( $P \geq 0.01$ ) entre los tratamientos, en la Tabla 2 se observa el rango promedio de las significancias asintóticas ajustadas mediante la corrección de Bonferroni para las muestras.

Tabla 2.

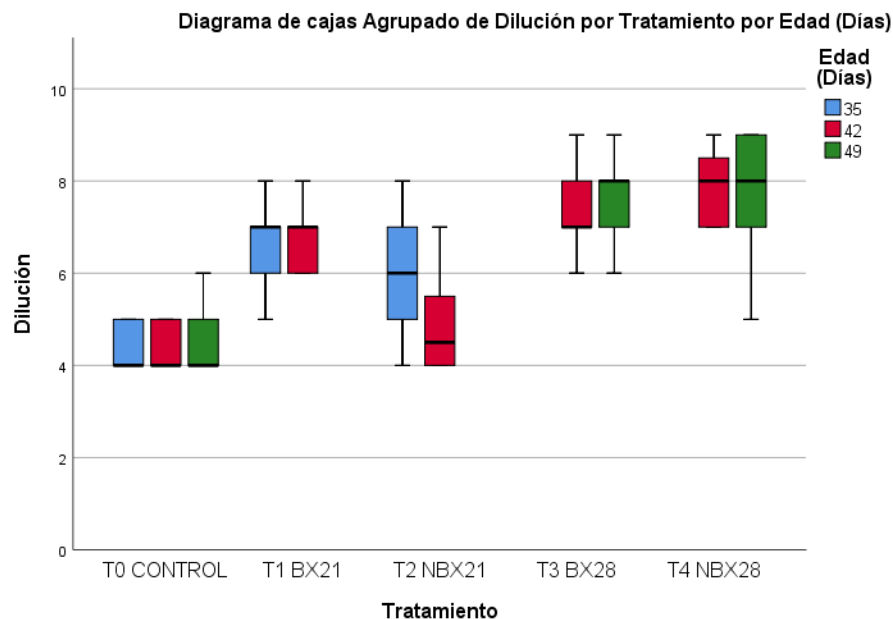
*Rango promedio de las muestras, con la prueba de comparación de medianas por la prueba de Bonferroni.*

Muestras	Estadístico de contraste	Error	Desviación de contraste	Sig.	Sig. ajust
<b>T0 control – T1 BX21</b>	-36.39	9.212	-3.95	0.001	0.001
<b>T0 control – T2 NBX21</b>	-19.77	8.99	-2.19	0.028	0,278
<b>T0 control – T3 BX28</b>	-54.59	9.46	-5.76	0.000	0.000
<b>T0 control – T4 NBX28</b>	-68.70	9.212	-7.45	0.000	0.000
<b>T1 BX21- T2 NBX21</b>	16.62	9.30	1.786	0,074	0.740
<b>T1 BX21- T3 BX28</b>	-18.19	0.76	-1.86	0.062	0.622
<b>T1 BX21- T4 NBX28</b>	-32.31	9.51	3.39	0.010	0.170
<b>T2 NBX21- T3 BX28</b>	-34.82	9.55	-3.64	0.000	0.003
<b>T2 NBX21- T4 NBX28</b>	-48.93	9.30	-5.25	0.00	0.000
<b>T3 BX28- T4 NBX28</b>	-14.11	0.76	-1.44	0.148	1.000

*T0 control: Pollos sin vacuna y con BF; T1 BX21: Pollos bursectomizados al día 21 y vacunados el día 22; T2 NBX21: Pollos con BF y vacunados el día 22. (Control); T3 BX28: Pollos bursectomizados al día 28 y vacunados el día 29; T4 NBX28: Pollos con BF y vacunados el día 29. (Control).*

*Nota: Autores, 2020.*

## EFEECTO DE LA BURSECTOMÍA



**Figura 6.** Diagrama de caja. **T0 control:** Pollos sin vacuna y con BF; **T1 BX21:** Pollos bursectomizados al día 21 y vacunados el día 22; **T2 NBX21:** Pollos con BF y vacunados el día 22. (Control); **T3 BX28:** Pollos bursectomizados al día 28 y vacunados el día 29; **T4 NBX28:** Pollos con BF y vacunados el día 29. (Control).

Nota: Autores, 2020

En la Figura 6 se observa el diagrama de cajas donde se muestra que entre los días (35,42 y 49 días) no existen diferencias entre las medianas para los tratamientos: T1BX21 Vs T2NBX21 no hubo diferencias a los 35 y 42 días, con respecto a los títulos de la ND; de igual manera pasa con T3BX28 vs T4NBX28 a los días 42 y 49 días de la investigación.

## **DISCUSIÓN**

La vacunación es una de las herramientas para la prevención de las enfermedades y la reducción de las pérdidas económicas en la producción aviar (Bosha y Nongo, 2012). Las vacunas con virus vivos disminuyen la patogenicidad a través de cultivos consecutivos, manteniendo su antigenicidad inmunogénica para estimular la respuesta inmune del ave (Ganguly et al., 2010).

La IBD es una de las patologías inmunosupresoras más importantes para la avicultura, los daños que causa sobre la BF dependen de la genética, la edad, cepa del virus, presencia de los anticuerpos maternos y plan vacunal (Rautenschlein, et al., 2005). En el presente estudio se simuló el daño que puede producir la vacunación a la BF (hiperemia de la bolsa, edema, necrosis, a nivel macroscópico, a nivel histopatológico, necrosis linfóide, depleción y atrofia de los folículos bursales, formación de vacuolas, invaginación del epitelio, entre otros), con una cepa intermedia plus de IBD con la bursectomía de las aves, dejándolas sin órgano linfóide primario (Babaahmady et al., 2005).

Estudios como los expuestos por Thornton y Pattison, (1975); Sharma et al., (2000); Raustenschlein et al., (2003); Yeh et al., (2002); Raustenschlein et al., (2005) y Castro et al., (2005), causaron lesiones a la bolsa a través de vacunas de IBD, intermedias e intermedias plus, encontrando lesiones en la bolsa en menor y mayor grado, las lesiones fueron comparables con una bursectomía.

La atrofia de la BF se asocia con inmunosupresión (Mariño y Hanson, 1987), pero esto depende de los MDA, que en la investigación presentan un  $\log_2$  bajo hasta el final de la investigación, estando en discrepancia con lo publicado por Castro et al. (2005) que no detectaron títulos a temprana edad en la parvada usada en la investigación descrita por ellos.

### *EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

Al analizar los resultados obtenidos, los títulos de anticuerpos para la enfermedad de Newcastle, no existieron diferencias significativas para los días de la investigación entre las aves bursectomizadas y las que no se les realiza la bursectomía; presentando los grupos una respuesta humoral que no se parece a lo reportado por Castro et al., (2005) y por Mazariegos et al. (1990), que encontraron lesiones en las BF. Las aves de su estudio no presentaron una buena respuesta a la vacunación, por el contrario, lo reportado por Giambrone y Clay (1986) no evidenciaron daños en la bolsa, y los títulos serológicos fueron altos demostrándose una seroconversión.

En la presente investigación la bursectomía realizada en las aves a los días 21 y 28 (T1 y T3), generó seroconversión por la prueba de HI en los 35, 42 y 49 días respectivamente.

Esto significa que extraer la BF a partir de 21 días no compromete la respuesta inmune humoral para la enfermedad de Newcastle. Este hallazgo se explica por la función de la BF como órgano de maduración de linfocitos B, los cuales ya maduros empiezan a migrar desde la BF a los órganos linfoides secundarios como el bazo y a todos los agregados linfoides distribuidos en el organismo. Este proceso se sucede mayoritariamente entre el nacimiento y los 21 días de vida. De acuerdo a Lasher y Shane, (1994), la bolsa es un órgano linfoide primario, el bazo y los órganos linfoides secundarios son colonizados, lo que contribuye en la elaboración de la respuesta humoral normal en ausencia de BF (Burkhardt y Müller, 1987). El trabajo realizado obtuvo el mismo resultado que el de Faragher et al., en 1972, concluyendo que la infección por virus de IBD o en este caso la bursectomía que simula el daño producido por un virus de esta enfermedad, no tiene efecto si la infección o el proceso quirúrgico se realiza posterior a 21 días.

*EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

Por ello, en este estudio la bursectomía causo un efecto mínimo sobre la respuesta de anticuerpos de las aves a los 21 días de edad, al igual que los estudios de Cullen (1982) y Palya (2012), aún cuando este ultimo realizó la Bursectomía a los 15 días de edad, pero el resultado fue el mismo observado en nuestro trabajo.

**CONCLUSIONES**

En el presente trabajo, cuando se aplicó la vacuna de New Castle en las aves Control y aquellas No Bursectomizadas y Bursectomizadas todos los grupos seroconvirtieron y no hubo diferencias estadísticamente significativas ( $P \geq 0.01$ ). Sin embargo, cuantitativamente, las aves control mostraron menor seroconversión. Esta situación podría explicarse por diseminación horizontal del virus vacunal desde los grupos vacunados a las aves control.

Las aves bursectomizadas tanto a los días 21 como 28, respondieron a la vacuna de New Castle igual que aquellas que tenían la BF. No se encontraron diferencias significativas ( $P \geq 0.01$ ). Esto puede deberse a que la lesión de la BF, en este caso simulada con la bursectomización a partir de 21 días de edad, no compromete la capacidad de las aves en estudio para responder a la vacunación para Newcastle.

El trabajo realizado permite inferir que la vacunación con cepas intermedias plus para la enfermedad de Gumboro, no comprometen la respuesta a la vacunación para la enfermedad de Newcastle, si las lesiones que produce su replicación en la BF son posteriores a 21 días.

Los datos obtenidos en el presente trabajo podrían ser particularmente importante para la industria de pollo de engorde en Colombia donde alrededor del 80% de esta industria utiliza vacunas intermedias plus para la protección contra la enfermedad de Gumboro.

**RECOMENDACIONES**

Realizar este mismo trabajo en unidades de aislamiento que permitan asegurar que las aves control no sean expuestas a virus vacunal de Newcastle, como quizás sucedió en este trabajo con las aves control.

Realizar este mismo estudio, pero adicionando un grupo vacunado contra la enfermedad de Gumboro utilizando vacuna intermedia plus, y evaluar la respuesta humoral frente a la vacunación para Newcastle.

Finalmente realizar el procedimiento de Bursectomia en aves de 14 días con el objetivo de evaluar si la ausencia de BF a esta edad compromete la respuesta inmune humoral para la vacunación de Newcastle.

Realizar un estudio con una vacuna de la enfermedad de Gumboro intermedia plus, para evaluar la reacción humoral de la BF atrofiada más no bursectomisada.

## REFERENCIAS

- Alexander, D. and Jones, R. (2003). Newcastle Disease, Other Avian Paramyxovirus, and Pneumovirus Infections. In: Y.M. Saif (Ed.) Diseases of Poultry, 11th Edition, p. 63-92. Iowa State Press.
- Alexander, D. J., & Senne, D. A. (2008). Newcastle disease, other avian paramyxoviruses, and pneumovirus infections. *Diseases of poultry*, 11, 63-69.
- Allan, W., Lancaster, J., and Toth, B. (1978), Newcastle disease vaccines—Their production and use. FAO Animal Production and Health Series No. 10. FAO, Rome, Italy.
- Babaahmady, E.; Joa, R.; Noda, J. (2005) Enfermedad de Gumboro. Histopatología de la Bolsa de Fabricio en la enfermedad natural y experimental en pollos de engorde REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, vol. VI, núm. 4, pp. 1-9 Veterinaria Organización Málaga, España.
- Balaguer, J. (2008) *Inmunidad Pasiva*. Recuperado de <https://seleccionesavicolas.com/pdf-files/2008/8/4082-inmunidad-pasiva-i.pdf>
- Bayliss, C., Peters, R., Cook, J., Reece, R., Howes, K., Binns, M., y Boursnell, M. (1991). A recombinant fowlpox virus that expresses the VP2 antigen of infectious bursal disease virus induces protection against mortality caused by the virus. *Archives of Virology*, 120(3), 193–205. <https://doi.org/10.1007/BF01310475>
- Bennington, J. (1991). Diccionario enciclopédico del laboratorio clínico. Ed. Médica Panamericana, Argentina.
- Boot, H., ter Huurne, A., Hoekman, A., Pol, J., Gielkens, A., y Peeters, B. (2002). Exchange of the C-terminal part of VP3 from very virulent infectious bursal disease virus results in an attenuated virus with a unique antigenic structure. *Journal of virology*, 76(20), 10346–10355.



*EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

- Bosha J, Nongo N. (2012). Common breaches in poultry vaccine handling and administration in Makurdi metropolis: A recurrent phenomenon in the tropics. *Vom Journal of Veterinary Sciences*. 2012a;9:11-16
- Box, P., Furminger, I., Robertson, W., Warden, D. (1976). The effect of Marek's Disease vaccination on immunity of day-old chicks against Newcastle Disease, using B1 and oil emulsion vaccine. *Avian Pathology*, v.5, p. 299-30 "Genotype effect on distribution pattern of maternally derived antibody against Newcastle disease in Nigerian local chickens". Available from: [https://www.researchgate.net/publication/270291405\\_Genotype\\_effect\\_on\\_distribution\\_pattern\\_of\\_maternally\\_derived\\_antibody\\_against\\_Newcastle\\_disease\\_in\\_Nigerian\\_local\\_chickens](https://www.researchgate.net/publication/270291405_Genotype_effect_on_distribution_pattern_of_maternally_derived_antibody_against_Newcastle_disease_in_Nigerian_local_chickens) [accessed Jul 01 2019].
- Burkhardt, E., Müller, H. (1987). Susceptibility of chicken blood lymphoblasts and monocytes to infectious bursal disease virus (IBDV). *Arch. Virol.* 94: 97-303.
- Camilotti, E., Moraes, L., Furian, T., Borges, K., Moraes, H., y Salle, C. (2016). Infectious Bursal Disease: Pathogenicity and Immunogenicity of Vaccines. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 18(2), 303-308. <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2015-0148>
- Ciriaco, E., Píñera, P., Díaz-Esnal, B., y Laurà, R. (2003). Age-related changes in the avian primary lymphoid organs (thymus and bursa of Fabricius): Aging of Avian Primary Lymphoid Organs. *Microscopy Research and Technique*, 62(6), 482–487. <https://doi.org/10.1002/jemt.10416>
- Cooper, M., Peterson, R., y Good, R. (1965). Delineation of the Thymic and Bursal Lymphoid Systems in the Chicken. *Nature*, 205(4967), 143–146. <https://doi.org/10.1038/205143a0>
- Cruz, M. (1999). Bioseguridad en la industria avícola. Editorial Quebecor Impreandes. pp. 73-85.

*EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

- Cserep, T. (2002). Datafile: drinking water vaccination. Intervet Poultry Division. Recuperado de <http://www.enfermedad-gumboro.com/control/vacunacion/programas-vacunacion.asp>
- Cserep, T. (2008). Vaccines and vaccination. *Poultry diseases*, 66–81.
- Darteil, R., Bublot, M., Laplace, E., Bouquet, J., Audonnet, J., y Rivière, M. (1995). Herpesvirus of turkey recombinant viruses expressing infectious bursal disease virus (IBDV) VP2 immunogen induce protection against an IBDV virulent challenge in chickens. *Virology*, 211(2), 481–490.
- Davison, F. (2014). The importance of the avian immune system and its unique features. En *Avian immunology* (pp. 1–9). Elsevier.
- Del Tordello, E., Rappuoli, R., and Delany, I. (2016), *Reverse Vaccinology: Exploiting Genomes for Vaccine Design*. Elsevier Inc.
- Dimitrov, K., Afonso, C., Yu, Q. and Miller, P. (2017). “Newcastle disease vaccines—A solved problem or a continuous challenge?,” *Vet. Microbiol.*, vol. 206, pp. 126–136.
- Eterradossi, N., y Saif, Y. (2020). Infectious bursal disease. *Diseases of poultry*, 257–283.
- Faragher, J., Allan, W., y Cullen, G. (1972). Immunosuppressive Effect of the Infectious Bursal Agent in the Chicken. *Nature New Biology*, 237(73), 118-119.  
<https://doi.org/10.1038/newbio237118a0>
- Fellah, J., Jaffredo, T., Nagy, N., y Dunon, D. (2014). Development of the avian immune system. En *Avian immunology* (pp. 45–63). Elsevier.
- FENAVI, “ESTADÍSTICAS PÚBLICO EN GENERAL: Producción,” 2018. [Online]. Available: <http://fenavi.org/estadisticas/informacion-estadistica-publica/#1538599468784-33441e59-1807>. [Accessed: 08-Jun-2019].

*EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

- Francois, A., Chevalier, C., Delmas, B., Eterradossi, N., Toquin, D., Rivallan, G., y Langlois, P. (2004). Avian adenovirus CELO recombinants expressing VP2 of infectious bursal disease virus induce protection against bursal disease in chickens. *Vaccine*, 22(17–18), 2351–2360.
- Gagic, M., Hill, C., y Sharma, J. (1999). In ovo Vaccination of Specific-Pathogen-Free Chickens with Vaccines Containing Multiple Agents. *Avian Diseases*, 43(2), 293.  
<https://doi.org/10.2307/1592620>
- Ganar, K., Das, M., Sinha, S., and Kumar, S. (2014), “Newcastle disease virus: Current status and our understanding,” *Virus Res.*, vol. 184, pp. 71–81.
- Ganguly S, Paul I, Mukhopadhyay S. (2010) Different types of vaccines and vaccination – The most accepted trend to control and eradicate infections. *Indian Pet Journal*. Pp 34-37
- Giambrone, J., Clay, R. (1986). Evaluation of the immunogenicity, stability, pathogenicity and immunodepressive potential of four commercial live infectious bursal disease vaccines. *Poultry Sci.*
- Glick, B., Chang, T., y Jaap, R. (1956). The bursa of Fabricius and antibody production. *Poultry Science*, 35(1), 224–225.
- Glick, B., y Oláh, I. (1984). Methods of bursectomy. En *Methods in Enzymology* (Vol. 108, pp. 3–10). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)08068-X](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)08068-X)
- Goutebroze, S., Curet, M., Jay, M., Roux, C., y Le, F. (2003). Efficacy of a recombinant vaccine HVT-VP2 against Gumboro disease in the presence of maternal antibodies. *British poultry science*, 44(5), 824–825.
- Guerrero, F. (2015). *Funcionamiento del sistema inmune del ave*. En LII Simposio Científico de Avicultura. Málaga. Asociación Española de Ciencia Avícola. P. pp. 55-58. Recuperado de [https://www.wpsa-aece.es/aece\\_imgs\\_docs/16751\\_sistema%20inmune%20del%20ave\\_farinas.pdf](https://www.wpsa-aece.es/aece_imgs_docs/16751_sistema%20inmune%20del%20ave_farinas.pdf)

*EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

- Hamal, K., Burgess, S., Pevzner I., Erf, G. (2006). Maternal antibody transfer from dams to their egg yolks, egg whites, and chicks in meat lines of chickens. *Poult Sci.* Aug;85(8):1364- 72.
- Houssaint, E., Belo, M., y Le Douarin, N. (1976). Investigations on cell lineage and tissue interactions in the developing bursa of Fabricius through interspecific chimeras. *Developmental biology*, 53(2), 250–264.
- Huang, Z., Elankumaran, S., Yunus, A., y Samal, S. (2004). A Recombinant Newcastle Disease Virus (NDV) Expressing VP2 Protein of Infectious Bursal Disease Virus (IBDV) Protects against NDV and IBDV. *Journal of Virology*, 78(18), 10054–10063.  
<https://doi.org/10.1128/JVI.78.18.10054-10063.2004>
- Lasher, H., Shane, S. (1994) Infectious bursal disease. *World's Poult. Sci. J.* 50:133-166. 65, 1.287-1.290.
- Lupetti, M., Dolfi, A., Giannessi, F., Bianchi, F., y Michelucci, S. (1990). Reappraisal of histogenesis in the bursal lymphoid follicle of the chicken. *American Journal of Anatomy*, 187(3), 287–302. <https://doi.org/10.1002/aja.1001870308>
- Marino, O., y Hanson, R. (1987). Cellular and Humoral Response of in Ovo- Bursectomized Chickens to Experimental Challenge with Velogenic Newcastle Disease Virus. *Avian Diseases*, 31(2), 293. <https://doi.org/10.2307/1590875>
- Miller, P., King, D., Afonso, C., and Suarez, D. (2007). “Antigenic differences among Newcastle disease virus strains of different genotypes used in vaccine formulation affect viral shedding after a virulent challenge,” *Vaccine*, vol. 25, no. 41, pp. 7238–7246.
- Moore, M. (1967). EXPERIMENTAL STUDIES ON THE DEVELOPMENT OF THE THYMUS. *Journal of Experimental Medicine*, 126(4), 715–726.  
<https://doi.org/10.1084/jem.126.4.715>

*EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

- Moore, M., y Owen, J. (1965). Chromosome Marker Studies on the Development of the Haemopoietic System in the Chick Embryo. *Nature*, 208(5014), 956–956.  
<https://doi.org/10.1038/208956a0>
- Moreno, O. (2000). Técnicas para realizar pruebas de laboratorio, HI y ELISA. ICA, regional Bucaramanga. p.30.
- Moticka, E. (2016). The Bursa of Fabricius in Lymphocyte Maturation. En *A Historical Perspective on Evidence-Based Immunology* (pp. 75-82). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398381-7.00010-1>
- Müller, H., Mundt, E., Etteradossi, N., and Islam, M. (2012). Current status of vaccines against infectious bursal disease. *Avian Pathology*, 41(2), 133–139.  
<https://doi.org/10.1080/03079457.2012.661403>
- Mundt, E., Beyer, J., y Müller, H. (1995). Identification of a novel viral protein in infectious bursal disease virus-infected cells. *Journal of General Virology*, 76(2), 437–443.  
<https://doi.org/10.1099/0022-1317-76-2-437>
- Nagy, N., y Olah, I. (2010). Experimental evidence for the ectodermal origin of the epithelial anlage of the chicken bursa of Fabricius. *Development*, 137(18), 3019–3023.  
<https://doi.org/10.1242/dev.055194>
- Oláh, I., Nagy, N., & Vervelde, L. (2014). Structure of the avian lymphoid system. En *Avian immunology* (pp. 11–44). Elsevier.
- Palya, V., Kiss, I., Tatar-Kis, T., Mato, T., Felföldi, B., y Gardin, Y. (2012). Advancement in vaccination against Newcastle disease: Recombinant HVT NDV provides high clinical protection and reduces challenge virus shedding with the absence of vaccine reactions. *Avian diseases*, 56(2), 282–287.

*EFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

- Rautenschlein, S., y Haase, C. (2005). Differences in the immunopathogenesis of infectious bursal disease virus (IBDV) following in ovo and post-hatch vaccination of chickens. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 106(1–2), 139–150.  
<https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2005.02.011>
- Rautenschlein, S.; Yeh, Y.; Sharma, J. (2003). Comparative immunopathogenesis of mild, intermediate, and virulent strains of classic infectious bursal disease virus. *Avian Dis.* 47:66-78.
- Sharma, J.; Kim, J.; Rautenschlein, S.; Yeh, Y. (2000). Infectious Bursal disease virus of chickens: pathogenesis and immunosuppression. *Devel. & Comp. Immunol.* 24: 223-235.
- Swayne, D. (Ed.). (2020). *Diseases of poultry* (Fourteenth edition). Wiley-Blackwell.
- Tsukamoto, K., Kojima, C., Komori, Y., Tanimura, N., Mase, M., y Yamaguchi, S. (1999). Protection of chickens against very virulent infectious bursal disease virus (IBDV) and Marek's disease virus (MDV) with a recombinant MDV expressing IBDV VP2. *Virology*, 257(2), 352–362.
- Villegas Narvaez, P., Brash, M., y American Association of Avian Pathologists (Eds.). (2013). *Manual de enfermedades de las aves* (Séptima edición). Jacksonville, Florida: AAAP, Inc.
- Whitfill, C., Haddad, E., Ricks, C., Skeeles, J., Newberry, L., Beasley, J., Andrews, P., Thoma, J., y Wakenell, P. (1995). Determination of Optimum Formulation of a Novel Infectious Bursal Disease Virus (IBDV) Vaccine Constructed by Mixing Bursal Disease Antibody with IBDV. *Avian Diseases*, 39(4), 687. <https://doi.org/10.2307/1592404>
- Wood, G. Muskett, J., Thornton, D. (1981). The interaction of live vaccine and maternal antibody in protection against infectious bursal disease. *Avian Pathol.* 10 :365–373.  
<https://doi.org/10.1080/03079458108418485>

*EFFECTO DE LA BURSECTOMÍA*

Wyeth, P., Chettle, N., y Mohepat, A. (1992). Use of an inactivated infectious bursal disease oil emulsion vaccine in commercial layer chicks. *Veterinary Record*, 130(2), 30–32.

<https://doi.org/10.1136/vr.130.2.30>

Yeh, H., Rautenschlein, S., and Sharma, J. (2002). Protective immunity against infectious bursal disease virus in chickens in the absence of virus-specific antibodies. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 89:159-167.