UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

"DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS SÉRICOS CONTRA LAS ENFERMEDADES DE NEWCASTLE E INFLUENZA AVIAR, EN AVES DE TRASPATIO CIRCUNDANTES A UNA GRANJA AVÍCOLA TECNIFICADA, EN LA CABECERA DEPARTAMENTAL DE CHIMALTENANGO"

ISRAEL BALDOMERO SIMÓN PERÉN

GUATEMALA MARZO 2009

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

"DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS SÉRICOS CONTRA LAS ENFERMEDADES DE NEWCASTLE E INFLUENZA AVIAR, EN AVES DE TRASPATIO CIRCUNDANTES A UNA GRANJA AVÍCOLA TECNIFICADA, EN LA CABECERA DEPARTAMENTAL DE CHIMALTENANGO"

TESIS

Presentada ala Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

POR

ISRAEL BALDOMERO SIMÓN PERÉN

Al conferírsele el Grado Académico de

Médico Veterinario

GUATEMALA MARZO 2009

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA JUNTA DIRECTIVA

DECANO: Lic. Zoot. Marco Vinicio de La Rosa Montepeque.

SECRETARIO: Med. Vet. Marco Vinício García Urbina.

VOCAL I: Med. Vet. Yeri Edgardo Véliz Porras.

VOCAL II: Mag. Sc. M.V. Fredy Rolando González Guerrero.

VOCAL III: Med. Vet. y Zoot. Mario Antonio Motta González.

VOCAL IV: Br. David Granados Dieseldorff.

VOCAL V: Br. Luis Guillermo Guerra Bone.

ASESORES

Med. Vet. Beatriz Santizo

Med. Vet. Cesar Arocha

Med. Vet. Jaime Méndez

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento a lo establecido por los Estatutos de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a consideración de ustedes el trabajo titulado

""DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS SÉRICOS CONTRA LAS ENFERMEDADES DE NEWCASTLE E INFLUENZA AVIAR, EN AVES DE TRASPATIO CIRCUNDANTES A UNA GRANJA AVÍCOLA TECNIFICADA, EN LA CABECERA DEPARTAMENTAL DE CHIMALTENANGO"

> Que fuera aprobado por junta directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título profesional de

MÉDICO VETERINARIO

ACTO Y TESIS QUE DEDICO

A DIOS: Por todo

A MI MADRE: Rafael Ángela Peren Salazar (Q.E.P.D), mi inspiración.

MI PADRE: Fabio Simón Puyón, por sus sabios consejos.

MI ESPOSA: Elza Victoria Curuchich Roquel, por su perseverancia y

Amor incondicional.

MIS HIJOS: Víctor Israel, Ángela Emilia y Rodrigo Sebastián, razón

de mis esfuerzos.

HERMANOS: Por su cariño.

A MIS ASESORES: Dra. Beatriz Santizo, Dr. Cesar Arocha y Dr. Jaime

Méndez por su paciencia y apoyo.

A MIS AMIGOS: Mil gracias por contar con su amistad.

A MIS FAMILIARES: Por mantener la unidad familiar, base de la sociedad.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de San Carlos de Guatemala

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

A la Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

A mi familia

A mis amigos

Al Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA), en especial al Dr. Mario Erales y al Técnico Avícola Agustín Hernández.

ÍNDICE

		Página
I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	HIPÓTESIS	2
III.	OBJETIVOS	3
3.1.	General	3 3
3.2.	Específicos	3
IV.	REVISION DE LITERATURA	4
4.1	Enfermedad de Newcastle	4
4.1.1	Definición	5
4.1.2	Historia	5
4.1.3	Etiología	6
4.1.4	Epidemiología	7
4.1.5	Signos clínicos	10
1.1.5.1	Newcastle velogénico viscerotrópico	10
1.1.5.2	Newcastle velogénico neurotrópico	10
1.1.5.3	Newcastle mesogénico	10
1.1.5.4	Newcastle lentogénico	11
1.1.5.5	Newcastle asintomático	11
4.1.6	Lesiones macroscópicas	11
4.1.7	Histopatología	12
4.1.8	Diagnóstico	12
1.1.8.1	Clínico	12
1.1.8.2	Laboratorio	12
4.1.9	Diagnostico diferencial	15
4.1.10	Tratamiento	16
4.1.11	Prevención y control	16
.1.11.1	Medidas sanitarias	16
.1.11.2	Vacunas y procedimientos	18
4.2	Influenza Aviar	20
4.2.1	Definición	20
4.2.2	Historia	21
4.2.3	Etiología	24
4.2.4	Epidemiología	25
4.2.5	Signos clínicos	26
4.2.6	Lesiones macroscópicas	27
4.2.7	Histopatología .	28
4.2.8	Diagnóstico	29
4.2.9	Diagnóstico diferencial	30
1 2 10	Tratamiento	30

4.2.11	Prevención y control	30
4.2.11.1	Medidas sanitarias	31
4.2.11.2	Vacunación	32
٧.	MATERIALES Y METODOS	36
5.1	Materiales	36
5.1.1	Recursos humanos	36
5.1.2	Recursos de laboratorio	36
5.1.2.1	Inhibición de la hemoaglutinación	36
5.1.3	Recursos de campo	36
5.1.4	Recursos biológicos	37
5.1.4.1	Inhibición de la Hemoaglutinación	37
5.2	Metodología	37
5.2.1	Diseño del estudio	37
5.2.2	Muestreo	38
5.2.3	Metodología de campo	39
5.2.4	Metodología de laboratorio	39
5.3	Análisis estadístico	41
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
VII.	CONCLUSIONES	44
VIII.	RECOMENDACIONES	45
IX.	RESUMEN	46
Χ.	BIBLIOGRAFÍA	47
XI.	ANEXOS	50

I. INTRODUCCIÓN

La avicultura, específicamente la guatemalteca, es una de las ramas pecuarias más tecnificadas a nivel de Centroamérica. Actualmente se explotan aproximadamente diez millones de aves de postura comercial, generando fuentes de trabajo tanto en mano de obra calificada como en no calificada.

En la actualidad dado el proceso globalizante, amerita ponerle todo nuestro énfasis a dos afecciones respiratorias que afectan a aves de postura, éstas son la enfermedad de Newcastle y la de Influenza Aviar, ya que podrían ser una limitante para llenar los estándares de calidad que requiere el mercado internacional.

La enfermedad de Newcastle, se caracteriza por presentar síntomas de carácter respiratorio, nervioso y digestivo. Representa un rubro muy importante en el costo de producción de una caja de huevos debido a que se vacuna para prevenir la enfermedad.

En cuanto a la enfermedad de Influenza Aviar, por el momento la cepa identificada es la H5N2, la cual es de baja patogenicidad. La sintomatología es similar a la de Newcastle, por lo que muchas veces es necesario hacer un diagnóstico diferencial a nivel de laboratorio. Esta afección mantiene en zozobra a los avicultores no sólo guatemaltecos sino a nivel mundial por su importancia en salud pública ya que afecta al ser humano, aunque el serotipo que afecta a la humanidad es diferente al que se encuentra en aves de Guatemala.

El objetivo del siguiente trabajo de tesis es el de aportar información a través de análisis serológico de las aves de traspatio que circundan a una granja avícola tecnificada, ubicada en la cabecera de Chimaltenango y poder obtener conclusiones de cómo pueden afectarse.

II. HIPÓTESIS

Las aves de traspatio tienen un efecto directo sobre la transmisión de la enfermedad de New Castle e Influenza Aviar en una granja tecnificada del Departamento de Chimaltenango.

III. OBJETIVOS

3.1. General

• Efectuar un monitoreo de las enfermedades de Newcastle e Influenza Aviar a través de análisis serológicos (HI), en una granja tecnificada y su entorno comunal, en el departamento de Chimaltenango.

3.2. Específico

 Detectar la presencia de anticuerpos circulantes contra las enfermedades de Newcastle e Influenza Aviar en aves de traspatio no vacunadas entorno a una granja avícola tecnificada.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Enfermedad de Newcastle

4.1.1.- Definición

La enfermedad de Newcastle constituye una de las enfermedades más temidas por los avicultores, por la alta morbilidad y mortalidad que se presenta en las aves afectadas, con las consecuentes pérdidas económicas. Existen diferentes tipos de virus que determinan variaciones en la severidad de la enfermedad, que pueden confundirse con otras patologías que se manifiestan en forma similar como la Influenza Aviar. El virus es capaz de afectar los sistemas respiratorio, digestivo y nervioso (16).

Adicionalmente se ha definido a la enfermedad de Newcastle como la enfermedad de mayor importancia que afecta a las aves en todo el mundo, producida por cepas de paramixovirus aviar tipo 1 cuya patogenicidad varía desde baja (lentogénica), moderada (mesogénica), hasta alta (velogénica). Esta afección vírica de las aves es muy contagiosa y de gran importancia económica. El curso, síntomas y efectos económicos dependen mucho de la virulencia y afinidad orgánica del agente causal, así como también de los anticuerpos que puedan tener las aves al momento del desafío (2).

La Oficina Internacional de Epizootias (OIE) propuso como definición: infección en aves domésticas producida por un paramixovirus *aviar tipo 1* (APMV-1), que posee un índice de patogenicidad intracerebral en pollitos de un día (Gallus gallus) de 0.7 o más (2).

El uso de la palabra infección fue cuestionado ya que algunas especies de aves pueden estar infectadas con el agente virulento para el pollo, pero no muestran signos clínicos. Igualmente aves que poseen anticuerpos contra Newcastle pueden estar infectadas y excretar el virus sin mostrar sintomatología (2).

La Enfermedad exótica de Newcastle (velogénico viscerotrópico) es una enfermedad viral contagiosa y fatal que afecta a todas las especies de aves. Antiguamente conocida como enfermedad velogénica viscerotrópica de Newcastle, es probablemente una de las enfermedades más infecciosas de las aves de corral en todo el mundo. La enfermedad exótica de Newcastle es tan virulenta que muchas aves mueren sin mostrar ningún síntoma clínico. En las parvadas de aves de corral sin vacunar, puede darse una tasa de mortalidad cercana al 100 %. La enfermedad exótica de Newcastle puede infectar y causar la muerte incluso en aves de corral vacunadas (24). La forma mesogénica no siempre es fácil de definir, principalmente en los países del continente americano, aunque se le reporta frecuentemente en países Asiáticos, quizás debido al uso de vacunas que contienen cepas mesogénicas en esta parte del mundo. Estas cepas dan lugar a neumoencefalitis de curso suave, y solamente en animales jóvenes motivan una baja mortalidad (forma Beaudette) (2).

Las formas lentogénicas se presentan frecuentemente en todo el mundo principalmente en la industria del pollo de engorde. La enfermedad se presenta clínicamente inaparente, o bien se observan ligeros síntomas respiratorios (2).

4.1.2.- Historia

Se considera que los primeros brotes de la enfermedad de Newcastle se presentaron en 1926, en Java, Indonesia y en Newcastle-upon Tyne, Inglaterra. Existen informes de brotes de la enfermedad en Europa Central similares a los

que hoy se reconocen como enfermedad de Newcastle, que antecedieron a 1926 y que pudo haberse presentado en Corea desde 1924 (5).

El nombre de Newcastle lo acuñó Doyle como una medida temporal, ya que deseaba evitar un nombre descriptivo que pudiera confundirse con otras enfermedades (5).

La segunda panzootia tuvo lugar en aves en el Medio Oriente a finales del decenio de 1960 y su difusión fue mucho más rápida que en la primera, por lo cual llegó a todos los continentes y casi todos los países alrededor de 1973 (2).

La tercera se vinculó con enfermedad entérica y neurotrópica principalmente en palomas, la cual se diseminó hacia todo el mundo en palomas silvestres (2).

Hasta 1970 se consideraba que las palomas resistían de forma natural esta enfermedad. No obstante, a partir de 1980 se describe en numerosos palomares de la mayoría de los países Europeos (España, Holanda, Bélgica, Portugal, Reino Unido, etc.), una nueva enfermedad, que finalmente acaba reconociéndose como enfermedad de Newcastle (2).

4.1.3.- Etiología

Es un virus de la familia *paramyxoviridae*, género rubulavirus. Se inactiva a 56 grados centígrados cada 3 horas, a 60 grados centígrados cada 30 minutos y a 100 grados centígrados cada 1 minuto. Se inactiva a un pH ácido, es sensible al éter, es inactivado por formalina y fenol, sobrevive durante largos períodos a temperatura ambiente, especialmente en las heces (15). Es inactivado por la luz del sol (15-12). El virus puede sobrevivir en

carne congelada por lo menos durante seis meses y probablemente por años. Permanece viable en la piel de canales por 300 días o más y en médula ósea y pulmones por 190 días (4).

El virus se destruye rápidamente por la deshidratación y la luz solar, o por someterlo durante un minuto al agua hirviendo (16).

El virus de la enfermedad de Newcastle posee ciertas actividades biológicas, como actividad de neuraminidasa, actividad hemolítica y actividad hemoaglutinante (2).

Existen diversas cepas genéticamente distintas que se diferencian entre sí por el tiempo que requieren en causar la muerte en embriones de pollo y, por su virulencia y patología que producen en las aves que afectan.

En cuanto a la velocidad de causar la muerte en embriones de pollo, el virus puede ser velogénico (muerte en menos de 48 horas), mesogénico (muerte de 48 a 96 horas) y lentogénico (mata el embrión de 96 a 120 horas). También se clasifican según órganos o sistemas afectados en viscerotrópicos, neurotrópicos y neumotrópicos (2).

4.1.4.- Epidemiología

Huéspedes:

- Muchas especies de aves tanto domésticas como salvajes.
- Las gallinas son las aves de corral más susceptibles, los patos y los gansos son los menos susceptibles.
- Puede existir un estado portador en las psitacinas y en algunas otras aves salvajes.

Transmisión:

- Contacto directo con las secreciones de las aves infectadas, especialmente las heces.
- Comida, agua, instrumentos, locales, vestimentas humanas, etc.
 contaminados (24)

Fuentes de virus:

- Secreciones respiratorias, heces
- Todas las partes de las aves muertas
- El virus es transmitido durante el período de incubación y por un período limitado durante la convalecencia
- Se ha demostrado que algunos psitácidos transmiten durante más de un año el virus de la enfermedad de Newcastle de manera intermitente (24).

Una forma importante de transmisión en parvadas es a través de aerosoles. Otras formas de contagio pueden ser por el contacto directo con las secreciones de las aves infectadas, especialmente las heces.

También puede ser por contaminación de comida, agua, instrumentos, locales, vestimentas humanas, etc. (1). Transmisión a través del aire hasta 8 kms. de distancia o por moscas (4).

Los huevos rotos pueden servir como una fuente del virus, al igual que las heces, contaminando el exterior del huevo, así como cadáveres (2).

El virus vacunal (vacuna viva) se elimina por el huevo hasta 13 días postinoculación y en las heces de 14 a 19 días post-inoculación, siendo la eliminación del virus más prolongada en pavos (2). El virus es contagioso por varios períodos en condiciones frescas y húmedas, como en las acumulaciones de abono orgánico procedentes de aves (12).

Las siguientes fuentes del virus están involucradas en varias epizootias:

- Movimiento de aves silvestres vivas, aves mascotas exóticas, aves de combate, palomas de competencia, aves comerciales.
- · Otros animales.
- Movimientos de gente y equipo.
- Movimiento de productos avícolas.
- Alimento de aves contaminados.
- Agua
- Vacunas.
- Diseminación aérea.

Se reportó que la epizootia ocurrida en Inglaterra de 1971 a 1972, se debió en parte a su transmisión a través de corrientes de aire. Estudios realizados en cámaras de ambiente controlado han demostrado claramente complejidad de las interacciones virus-huésped-ambiente y pone de manifiesto que muchos de los reportes, en ocasiones contradictorios, que provienen de situaciones de campo, son resultado de condiciones ambientales específicas probablemente de cepas del virus involucradas (2).

Colectivos de riesgo:

Personal que desarrolla su actividad laboral en granjas y mataderos de aves, laboratorios animales, zoológicos, clínicas veterinarias, etc. El colectivo de mayor riesgo lo constituyen los profesionales que trabajan con vacunas vivas (7).

4.1.5.- Signos Clínicos

El período de incubación es de cuatro a seis días (5). La velocidad con la cual se presentan los signos, si los hay, es variable dependiendo del virus infectante, la especie del huésped y su edad, estado inmune, la infección con otros organismos, condiciones ambientales, la vía de exposición y la dosis (5).

4.1.5.1.- Newcastle velogénico viscerotrópico

Los signos clínicos que se pueden presentar son boqueo, tos, depresión inapetencia, caída total o parcial de la postura, huevos fárfaras, con cáscaras frágiles y albúmina líquida, diarrea grisácea líquida, inflamación alrededor de los ojos y cuello (2).

4.1.5.2.- Newcastle velogénico neurotrópico

En pollos se marca por el inicio repentino de un problema respiratorio grave, seguido en uno a dos días después por signos neurológicos. La producción de huevo disminuye de manera dramática, pero hay pocas veces diarreas. La morbilidad puede llegar a 100 %. La mortalidad por lo común, es más baja de manera considerable, aunque se registra hasta 50 % en aves adultas y 90 % en aves jóvenes (5).

4.1.5.3.- Newcastle mesogénico

Por lo general ocasiona problema respiratorio en infecciones de campo. En aves adultas hay notable caída de la producción de huevo que puede durar varias semanas. Puede haber signos nerviosos, pero no son comunes. La

mortalidad en aves en general, es baja, excepto en aves muy jóvenes y susceptibles, pero pueden verse afectadas de manera considerable por condiciones exacerbantes (5).

4.1.5.4.- Newcastle lentogénico

Se puede presentar en aves de todas las edades, en donde la infección es generalmente inaparente. A veces se puede observar ligera dificultad respiratoria, disminución a la producción de huevo, así como deterioro rápido de la calidad del cascarón. Además en pollo de engorde es responsable de pérdidas afectando la ganancia de peso, así como la viabilidad de la parvada (2).

4.1.5.5.- Newcastle asintomático

Es producido por el virus PMV-2 se relaciona con enfermedades respiratorias benignas o inaparentes en pollos y pavos (5).

Se detecta únicamente por medio de pruebas de laboratorio (aislamiento y serología) y está asociada a virus entéricos (2).

4.1.6.- Lesiones macroscópicas

No existen lesiones características de la enfermedad. La presencia y severidad de las mismas, están relacionadas con diferentes factores.

Cuando el sistema respiratorio está afectado se observan lesiones hemorrágicas y congestión de la tráquea con exudado mucoso, hay aerosaculitis.

En aves de postura se observan óvulos flácidos y degenerados, hemorragia y palidez de otros órganos reproductores, y retención de huevos en la cavidad abdominal.

La presencia de lesiones hemorrágicas en el tracto gastrointestinal, es un criterio que se ha empleado para diferenciar las cepas velogénicas-viscerotrópicas de las neurotrópicas, estas lesiones son frecuentes en proventrículo, ciegos, cloaca, tonsilas cecales y tracto intestinal (17).

4.1.7.- Histopatología

En la tráquea hay inflamación, edema desprendimiento de la mucosa e infiltración linfocítica. Los sacos aéreos pueden presentar edema, infiltración celular heterofílica y mono nuclear. A nivel de bursa se puede presentar severa necrosis de linfocitos y células reticulares e infiltraciones de fibrina en los capilares de bazo (2).

4.1.8.- Diagnóstico

4.1.8.1.- Clínico

Se basa en la anamnesis, sintomatología lesiones macroscópicas a nivel digestivo y respiratorio (2).

4.1.8.2.- Laboratorio

El diagnóstico definitivo de la enfermedad de Newcastle se hace por medio de aislamiento e identificación del agente infeccioso (2).

A.- Identificación del agente

La identificación del agente se hace por medio de:

- Inoculación de los huevos de gallina de 9 a 11 días de embrionados y a continuación:
 - o examen de la actividad de hemaglutinación
 - o inhibición de la hemaglutinación mediante un antisuero específico a la enfermedad de Newcastle (24).

B.-Evaluación de la patogenicidad

La patogenicidad del virus puede ser determinada por:

- Prueba de las placas en cultivos de fibroblastos de embriones.
- Tiempo medio de mortalidad de los huevos de gallina que están embrionando.
- Índice de patogenicidad intracerebral en pollitos de un día.
- Índice de patogenicidad intravenoso en pollos de seis semanas (24).

C. Pruebas serólógicas

Las pruebas serológicas más comunes son:

- Prueba de inhibición de hemaglutinación.
- ELISA (24).
- Inmunofluorescencia (2).

Inhibición de la hemaglutinación

Algunos virus pueden unir y aglutinar eritrocitos de mamíferos y aves. Esta hemaglutinación inducida por virus puede usarse para ayudar a caracterizar un virus desconocido. Es posible usar la inhibición de la hemaglutinación viral por anticuerpos, ya sea, como método para identificar un virus o para medir las concentraciones de anticuerpo en suero. Son microorganismos hemoaglutinantes los ortomixovirus y paramixovirus, alfavirus, flavivirus y bunyavirus, así como algunos adenovirus, reovirus, parvovirus y coronavirus. También lo son algunos micoplasmas, como Micoplasma gallisepticum (4).

ELISA

La unión covalente de enzimas a los anticuerpos da lugar a una herramienta inmunológica que posee a la vez, una alta especificidad y sensibilidad. La técnica denominada ELISA (del inglés zyme-linked immunosorben assay) utiliza anticuerpos que se unen covalentemente a las enzimas, de este modo se conservan las propiedades catalíticas de las enzimas y la especificidad de los anticuerpos.

Se han desarrollado dos metodologías de ELISA, una para la detección del antígeno (ELISA directo) y la otra para la detección de anticuerpos (ELISA indirecto) (22).

Inmunofluorescencia

Esta técnica posibilita la detección de reacciones de anticuerpos con células individuales.

Los anticuerpos pueden hacerse fluorescentes uniéndoles covalentemente compuestos orgánicos fluorescentes como rodamina B de florescencia roja o isotiocianato de fluoresceína que da una fluorescencia amarilla verdosa. Esto no altera la especificidad del anticuerpo, pero permite la detección del anticuerpo unido a la célula o los antígenos de la superficie tisular usando el microscopio de fluorescencia. Las células a las que se unen los anticuerpos fluorescentes emiten un color fluorescente brillante, generalmente rojo o amarillo verdoso, según el colorante utilizado.

4.1.9.- Diagnósticos diferencial

La enfermedad de Newcastle debe diferenciarse de:

- Cólera Aviar.
- Influenza Aviar
- Laringotraqueitis.
- Psitacosis (Clamidiasis en aves psitácidas)
- Micoplasmosis.
- Bronquitis Infecciosa.
- Malos manejos, como ausencia de agua, alimento y ventilación (24).

Muestras para aislamiento e identificación del virus

Identificación del agente

 Torundas de tráquea y cloaca (o muestras de heces) de aves vivas o de grupos de órganos y heces de aves muertas.

Pruebas serológicas:

Muestras de sangre coagulada o suero (24).

4.1.10.- Tratamiento

No existe tratamiento contra la enfermedad de Newcastle (2).

4.1.11.- Prevención y Control

De acuerdo con las normas de la OIE, un país se considera libre de Newcastle cuando la enfermedad no se ha presentado en el mismo, como mínimo en los 3 últimos años. Los países en que se ha llevado a cabo una política sistemática de saneamiento, con o sin vacunaciones, se estimarán limpios de la enfermedad cuando han transcurrido seis meses desde la desaparición del último caso. Una zona de un país en la que se ha presentado la afección se vuelve a estimar libre de esta enfermedad si desde la conclusión de las medidas de saneamiento y desinfección pasaron como mínimo 21 días, o bien, cuando no se han adoptado medidas de saneamiento seis meses desde la curación clínica o la muerte del último animal afectado (2).

4.1.11.1.- Medidas sanitarias

Antes de que se presente un brote, es importante considerar los siguientes puntos:

- En las instalaciones sólo permitir la presencia de los trabajadores y vehículos fundamentales.
- Proporcionar a los empleados ropa limpia e instalaciones para desinfección.

- Limpiar y desinfectar los vehículos (incluyendo los neumáticos y chasis) al entrar y salir de las instalaciones.
- Evitar visitar otros sitios de producción avícola.
- Mantener la filosofía de administración de aislamiento de las parvadas de una misma edad.
- Controlar el movimiento de todas las aves y productos avícolas desde una granja a otra.
- No separar las aves maduras de una parvada para venderlas en mercados de aves de corral vivas.
- Limpiar y desinfectar los gallineros entre cada partida de aves.
- No mantener aves como mascotas en la granja. No contratar empleados que tengan aves como mascotas.
- Excluya a las cuadrillas de vacunación, cuadrillas de captura y demás personal de servicio que puedan haber estado en contacto con otros sitios de producción avícola dentro de las 24 horas anteriores.
- Proteger a las parvadas de los pájaros silvestres que puedan intentar anidar en los corrales o alimentarse junto a las aves de la granja.
- Controlar los movimientos asociados con la eliminación y manipulación de las aves muertas, camas y estiércol.
- Llevar a las aves enfermas a un laboratorio de diagnóstico para su examen (14).

Ante la presencia de un brote de Newcastle, las medidas sanitarias a tomar son:

- Destrucción de todas las aves infectadas o expuestas.
- Limpieza a fondo y desinfección de las instalaciones.
- Aislamiento estricto de brotes.
- Implementación de vacunas vivas y/o emulsionadas en futuros lotes.
- Desecho adecuado de cadáveres.

- Control de plagas que puedan diseminar la enfermedad.
- Despoblar instalaciones y dejarlas libres por 21 días.
- Evitar contacto con aves de procedencia desconocida.
- Control del tránsito humano (2).

4.1.11.2.- Vacunas y procedimientos

A.- Vacunas de virus vivos

En general las vacunas vivas contra la enfermedad de Newcastle provienen de cepas de virus lentogénicos y mesogénicos (2).

Entre los diversos tipos de vacunas vivas, las más utilizadas son las que poseen las cepas Hitchner B1 o Lasota. Éstas son utilizadas en áreas donde el virus de Newcastle de alta patogenicidad está altamente difundido, por lo que se hace necesario mantener niveles elevados de anticuerpos como acción preventiva (2).

Entre las cepas lentogénicas están:

- Cepas F: las vacunas de las cepas F tienen la más baja virulencia de las lentogénicas comunes. Son más efectivas cuando una parvada se vacuna individualmente.
- Cepa B1 (Hitchner): es ligeramente más efectiva que la cepa F. Por lo general, se da en el agua de bebida o por el método de aerosol Puede proporcionarse al día de edad, pero después, debe ser seguida por una vacuna de tipo Lasota a los 10 o 14 días de edad.

 Cepa Lasota: es la más utilizada. El método del aerosol es la vía usual de la administración temprana, la cepa es particularmente adaptable a la primera vacunación o la revacunación, pero se debe tener cuidado porque estas vacunas varían en su virulencia. También puede aplicarse al agua. Los pollitos pueden ser vacunados entre el día uno y cuatro, pero al retrasar la vacunación hasta la segunda o tercer semana incrementa su eficiencia (2).

Las vacunas mesogénicas pueden producir serios efectos clínicos si se administran en aves que no han sido previamente inmunizadas.

Entre las cepas mesogénicas se encuentran:

- Cepa Mukteswar: esta cepa es particularmente patógena y debe usarse en aves que fueron vacunas con lentogénicas.
- Cepas Hartfordshire y Komarov: las vacunas preparadas con éstas son menos patógenas que la Mukteswar, pudiéndose mezclar con la vacuna viva de viruela. La cepa H puede administrarse por vía subcutánea o intramuscular.
- Cepas Roakin: son aislamientos que se han atenuado pero todavía muy virulentos. Se administra en el pliegue del ala. No puede aplicarse a pollitos jóvenes que llevan algún grado de inmunidad pasiva, es decir no antes de tres semanas, por lo que es mejor retrasar su uso hasta la octava semana (2).

B.- Vacunas inactivadas

Las vacunas preparadas con virus inactivados han sido ampliamente utilizadas por la industria avícola a partir de los primeros años de la década de 1970, cuando el vehículo con base de hidróxido de aluminio fue reemplazado

por el oleoso. Aunque la fórmula de la emulsión y el contenido antigénico varían en el producto final de una empresa a otra. Su uso se ha difundido principalmente para aves reproductoras y en ponedoras comerciales (2).

En muchos países se utilizan vacunas inactivadas para la inmunización de pollos de engorde al día de edad o en el control de la forma velogénica viscerotrópica. Son particularmente útiles especialmente en aves positivas a la infección con micoplasmas, en las cuales las reacciones post-vacunales pueden convertirse en problema ante la administración de vacunas con virus respiratorios activos. Las vacunas inactivadas son parte ordinaria de los programas de vacunación para ponedoras comerciales y reproductoras (2).

4.2.- Influenza Aviar

4.2.1.- Definición

La Influenza Aviar (IA) (Peste Aviar, Gripe Aviar, Plaga Avícola) (9) es una enfermedad viral infecciosa de muchas especies de aves, incluyendo pollos, pavos, aves de caza, ratites, aves acuáticas, pichones y pájaros silvestres (8).

La Influenza Aviar es una amenaza seria para toda la industria avícola: comercial, de caza, exhibición, acuática, ratites y pichones. Tan seria que la granja avícola infectada se coloca en cuarentena y se producen bajas de lotes infectados. Las exposiciones avícolas estatales, exhibiciones y ventas pueden cerrar. Las zonas en cuarentena pueden restringir el movimiento de todas las aves.

Otros países pueden prohibir la recepción de aves exportadas desde Estados Unidos de América (8).

Puede producir efectos devastadores, que se traducen en índices de mortalidad de hasta un 100 % y en las repercusiones económicas que puede tener como consecuencia de las restricciones económicas a las zonas afectadas. Es una enfermedad de la lista de la Oficina Internacional de Epizootias (9).

La Influenza Aviar constituye un peligro para los medios de subsistencia rurales, la producción avícola y la salud humana. Básicamente el virus H5N1 habría emergido por reordenamiento genético. La epidemia ha devastado la industria avícola del continente asiático y ha causado la muerte de 32 personas. La amenaza para la salud humana perdurará mientras existan casos de Gripe Aviar en el ambiente (3).

Las aves acuáticas migratorias han comprobado ser la reserva natural de esta enfermedad. Se conocen dos formas de virus de la IA, una de baja patogenicidad y otra altamente patógena, dependiendo de la severidad de los síntomas que causan. La mayoría de los virus de la IA son altamente patógenos y típicamente causan ninguno o muy pocos síntomas clínicos en aves infectadas, produciendo la muerte de inmediato. Algunos virus de baja patogenicidad de la IA son capaces de matar a virus altamente patógenos bajo condiciones de campo (2).

4.2.2.- Historia

La describió Perroncito como una enfermedad grave de pollos en Italia en 1878. Fue tipificado como un agente filtrable (virus), por Centanni y Savunozzi. Pero fue hasta 1955 cuando se demostró que los virus de la Peste Aviar era en realidad virus de Influenza tipo A.

En 1960, una variedad de virus de IA fue aislada de pavos con enfermedades leves (2).

Desde los decenios de 1950 y 1960 los descubrimientos de que el virus de la Peste Aviar era un virus de Influenza tipo A, y que los virus de influenza se pueden aislar de múltiples especies aviares domésticas y silvestres diferentes, iniciaron esfuerzos crecientes para comprender a los virus de Influenza Aviar (5).

En 1981, se abandonó el término Plaga Aviar y se tomo el de Influenza Aviar altamente patógena (2).

Alexander incluyó cinco brotes sustanciados desde 1975; éstos se produjeron en Australia (1975 y 1985), Inglaterra (1979) E.U.A (1983 y 1984) e Irlanda (1983 y 1984) En E.U.A. los únicos brotes graves se comunicaron en 1929, 1983 y 1984, lo cual indica la poca frecuencia de estos casos (5).

Los primeros aislamientos fueron obtenidos en abril de 1983. Fueron identificados como H5N2 y, con base en la inoculación en pollos, no se clasificaron como altamente patógenos. En octubre del mismo año se clasificaron como altamente patógenos con base en la inoculación en pollos (5).

En 1997 se presentaron tres brotes en el mundo, específicamente en Italia, Australia y Hong Kong (2).

En agosto de 2000, el virus de Influenza aviar H7N1 reapareció en pavos de engorde en la parte sur de la provincia de Verona al norte de Italia. Éste fue un virus de moderada patogenicidad (2).

En marzo de 2001 se identificaron virus de IA en pollos de engorde en una región avícola aislada y relativamente nueva en Pakistán. Entre la población afectada se encontraban ponedoras, reproductoras y pollo de engorde en aproximadamente 75 % de los lotes con una mortalidad de entre el 20 % y 85 % (2).

De diciembre de 2000 a abril de 2001, 29 virus de Influenza Aviar H5N1, de alta patogenicidad fueron aislados de patos y gansos. Algunos genes internos fueron similares a los del virus que afectó el área en 1997 (2).

En marzo de 2000 se detectó la presencia de anticuerpos séricos por infección de campo ante un virus H5N2 en aves del centro de Guatemala. Este virus fue tipificado como de baja patogenicidad (2).

En mayo de 2000, se realizó un aislamiento de virus de Influenza aviar y fue tipificado como un virus de patogenicidad baja por el Servicio Nacional de Laboratorios Veterinarios (National Veterinary Services Laboratory-NVSL-) en Ames Iowa, USA. En la evaluación que se realizó en el 2000, 13.8 % de las granjas eran positivas mientras que en el 2001 se redujo al 8.13 %.

Para el control de Influenza Aviar, el territorio de Guatemala está dividido en 5 zonas:

- 1- Zona libre de Influenza Aviar (51 % de territorio nacional, área noreste),
- 2- Zona de estudio epidemiológico (previo a la certificación como libre de Influenza Aviar, área noroeste),

- 3- Zona infectada (área sur central, tiene la mayor concentración de producción de aves),
- 4- Zona peri focal (aledaña a la zona de infección), y
- 5- Área de protección (alrededor de la zona peri focal) (2).

4.2.3.- Etiología

Se trata de virus con banda ARN negativa y segmentada, pertenecientes a la familia de los ortomixovirus y divididos en tres tipos que constituyen hoy en día un género: A, B y C. Los virus de influenza de tipo A son los únicos que provocan infecciones naturales en las aves. Éstos a la vez, se dividen en subtipos, determinados por las glicoproteínas de superficie, a saber, la hemoaglutinina (HA) y la neuraminidasa (H1 y N9). En los mamíferos, el número de subtipos y de combinaciones presentes naturalmente parece ser reducido, pero en las especies aviares se han aislado todos los subtipos y la mayoría de las combinaciones posibles.

El virus de influenza de tipo A por los que son infectadas las aves de corral puede dividirse en dos grupos según su poder patógeno. Los virus sumamente virulentos, pueden provocar hasta un 100 % de mortalidad, corresponden únicamente a los subtipos H5 Y H7, aunque no todos los virus pertenecientes a estos subtipos provocan siempre la enfermedad altamente patógena. Todos los demás virus provocan una enfermedad mucho más leve (9).

El nombre con que se clasifica a un virus de influenza aviar incluye tipo (A,B,C), el huésped de origen (con excepción de humano), el origen geográfico, el número de cepa (si existe) y el año de aislamiento, seguido de la descripción

antigénica de Hemoaglutinina (H) y Neuraminidasa (N), por lo que el virus aislado en Guatemala en el 2000 fue nombrado de la siguiente forma: A/Ck/Guate/01/00/H5N2 (2).

Se inactiva a 56 grados centígrados cada tres horas y a 60 grados centígrados cada 30 minutos, a pH ácido por agentes oxidantes, dodecil sulfato de sodio, disolventes de lípidos, B-propiolactona, por formalina y compuestos yodados. Sigue siendo viable durante mucho tiempo en los tejidos, las heces y el agua (3).

4.2.4.- Epidemiología

El primer virus de influenza aviar fue aislado en golondrinas marinas de Sudáfrica en 1961 (3).

Estos virus tienen como huésped natural a las aves silvestres, circulando entre ellas por todo el mundo (3).

Corresponde particular importancia a las aves acuáticas silvestres y, muy en especial, a los patos, en cuyo tracto digestivo se multiplican estos virus, para ser expulsados con las heces y difundirse ampliamente (19).

Según organismos internacionales como: la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Oficina Internacional de Epizootias (OIE), los patos domésticos podrían ser portadores del virus H5N1, y por lo tanto, ser transmisores del virus a otras especies, incluyendo a los seres humanos. Esta preocupación es mayor en las zonas rurales de los países afectados donde conviven patos de granja, aves de corral y animales silvestres, los que frecuentemente comparten las mismas fuentes de agua. Estudios recientes

demuestran que los patos domésticos expulsan mayor cantidad de virus durante períodos más largos, sin mostrar síntomas de enfermedad (8).

La principal fuente de transmisión es el animal infectado que elimina el virus por las heces (un gramo de estiércol contaminado puede contener suficiente virus como para infectar a un millón de aves), pero también con otras secreciones (conjuntivales y del tracto respiratorio). El contagio requiere el contacto directo de los animales, o bien se produce de manera inmediata a través de vectores (personas, pájaros silvestres) y vehículos (pienso, medios de transporte, jaulas). La transmisión vertical no tiene mucha importancia (2).

Hay evidencias que los pavos se pueden infectar con virus de cerdos (5).

La IA altamente patógena puede afectar rápidamente a las aves de corral sin ninguna señal de infección. Una vez establecida, se puede diseminar rápidamente de parvada en parvada (2).

Un brote de lA altamente patógena resulta muy perjudicial y costoso para la industria de aves de corral, los consumidores y ciudadanos. La erradicación de los brotes que sucedieron en 1983 y 1984 en el noreste de Estados Unidos de América y que resultaron en la destrucción de más de 17 millones de aves, costó cerca de 65 millones de dólares. También causó que los precios de los huevos aumentaran más de un 30 % (21).

4.2.5.- Signos clínicos

El período de incubación es de tres a cinco días (12). Los síntomas clínicos son muy variados, dependen del nivel de patogenicidad del virus, la

especie afectada, la edad y el sexo del animal infectado, y el medio o condiciones en que ocurre la enfermedad.

Las aves afectadas con la IA altamente patógena pueden manifestar uno o más de los siguientes síntomas:

- Muerte repentina ausente de síntomas clínicos, hasta el 100 %.
- Falta de energía y apetito.
- Baja producción de huevos.
- Huevos deformes o con cáscara blanda.
- Hinchazón de la cabeza, párpados, cresta, buche y tarsos.
- Decoloración morada en la barba, cresta y patas.
- Secreción nasal.
- Tos y estornudos.
- Falta de coordinación.
- Diarrea (21).

Al producirse Influenza Aviar por virus de baja patogenicidad se puede también ocasionar disminuciones en la producción de huevo o cese de la postura, síntomas respiratorios, anorexia, depresión, sinusitis y mortalidad lenta pero elevaba. Si existen otros patógenos la afección puede exacerbarse, lo cual elevaría la gravedad de los signos clínicos, y la mortalidad alcanzaría de un 60 % a 70 % (2).

4.2.6.- Lesiones macroscópicas

- Las lesiones pueden estar ausentes en los casos de muerte súbita.
- Congestión grave de la musculatura.

- Deshidratación.
- Edema subcutáneo de la cabeza y del cuello.
- Secreciones nasal y oral.
- Congestión grave de la conjuntiva, a veces con petequia.
- Exudación mucosa excesiva en el lumen de la tráquea o traqueítis hemorrágica grave.
- Petequias en el interior del esternón, en la grasa serosa y abdominal,
 en las superficies serosas y en la cavidad corporal.
- Congestión renal severa, a veces con depósitos de urato en los túbulos.
- Hemorragias y degeneración de los ovarios.
- Hemorragias en la superficie de la mucosa del proventrículo, particularmente en la unión con la molleja.
- Hemorragias y erosiones de la mucosa de la molleja.
- Focos hemorrágicos en los tejidos linfoideos de la mucosa intestinal (16).

Las lesiones en los pavos son similares a las de las gallinas, pero pueden ser menos marcadas. Los patos infectados por IA y que excretan los virus pueden no presentar ningún síntoma clínico ni lesión (16).

4.2.7.- Histopatología

Las lesiones histopatológicas clásicas son edema, hiperemia, hemorragias y focos de manguitos linfoides perivasculares, principalmente en el miocardio, bazo, pulmones, encéfalo, barbillas, y en menor grado, hígado y riñón. Degeneración y necrosis parenquimatosa en el bazo, hígado y riñón.

Las lesiones encefálicas comprenden focos de necrosis, manguitos linfoides perivasculares, focos iliales, proliferación vascular y alteraciones neuronales (5).

4.2.8.- Diagnóstico

Debido a la variabilidad de los síntomas clínicos, el diagnóstico clínico solo puede ser considerado presuntivo. El diagnóstico definitivo debe ser realizado en el laboratorio con métodos virológicos y serológicos, siendo positivo cuando se realiza el aislamiento viral (19).

Diagnóstico de laboratorio:

Muestras para el aislamiento e identificación del agente:

- Torundas de tráquea y cloaca (o heces) de aves vivas.
- Distintos órganos (pulmón, tráquea, intestino y cerebro) y heces de aves muertas.

Pruebas serológicas

- Muestras de suero.
- Hemaglutinación e Inhibición de Hemaglutinación.
- Inmunodifusión en Gel de Agar.
- Test mejorado de IFA (Prueba Inmunofluorescencia Indirecta) diferencia vacunados de infectados.
- ELISA (Enzima-inmuno-análisis absorbente) (10).

Identificación del agente

 Inoculación de huevos de gallina embrionados de nueve a once días de edad seguida por:

- o demostración de la hemaglutinación.
- o prueba de inmunodifusión para confirmar la presencia del virus de la Influenza Aviar.
- o determinación del subtipo con antisueros monoespecíficos.
- evaluación de la virulencia de la cepa: índice de patogenicidad intravenoso en pollitos de cuatro a ocho semanas de edad.

4.2.9.- Diagnóstico diferencial

Entre las enfermedades con las que se debe hacer diagnóstico diferencial están:

- Cólera Aviar agudo
- Forma velogénica de la enfermedad de Newcastle
- Laringotraqueítis
- Micoplasma
- Clamidiasis (2,19).

4.2.10.- Tratamiento

No existe tratamiento contra la enfermedad Influenza Aviar (2).

4.2.11.- Prevención y control

Para prevenir la introducción de la enfermedad se recomiendan los siguientes puntos:

 Impulsar la modernización y el fortalecimiento de los sistemas nacionales de sanidad e inocuidad de los alimentos, con el fin de mejorar las capacidades técnicas de los servicios para la aplicación de medidas sanitarias.

- Usar métodos y procedimientos de prevención respaldados científicamente a manera de imponer estrictas regulaciones cuarentenarias en las importaciones de aves y productos avícolas
- Aplicar una estricta inspección en los puertos de entrada de aves, vehículos y equipos avícolas e implementar en ellos programas de desinfección.
- Mejorar la capacidad para conocer, procesar y registrar información sobre el comportamiento, y las características de la enfermedad.
- Preparar y coordinar estrategias para anticiparse a la presencia y posible difusión de la enfermedad.
- Perfeccionar el programa para responder a emergencias.
- Alertar al sector privado y mantener comunicación permanente con él para coordinar y lograr su participación en acciones conjuntas.
- A nivel de granjas, mantenerlas fuera de las áreas frecuentadas por aves acuáticas silvestres, controlar el acceso de personas y equipos, desinfectar equipos de producción antes de introducirlos a las galeras y prescindir de comederos y bebederos para aves silvestres, y de lagunas para patos silvestres.

4.2.11.1.- Medidas sanitarias

En los países en los cuales la Influenza Aviar nunca ha sido detectada, la aparición de formas no patógenas debe ser evaluada, en cuanto a la misma, es potencialmente una posibilidad de aparición de las formas muy patógenas.

Se puede considerar que un país está libre de Influenza Aviar altamente patógena cuando consta que la enfermedad no se ha presentado en el mismo desde hace por lo menos tres años.

Este plazo se reducirá a seis meses después de haberse sacrificado al último animal afectado para los países que apliquen al sacrificio sanitario, asociado o no a la vacunación contra la Influenza Aviar altamente patógena (19).

Los programas de sacrificio y cuarentena fueron efectivos en la erradicación del virus altamente patógeno durante los brotes de 1970 a 1990 en Australia, Reino Unido, Hong Kong y Estados Unidos de América. Esto se debió al resultado de una excelente vigilancia para una rápida y pronta detección de Influenza Aviar, y además el gobierno apoyó los programas de indemnización nacional (12,9).

Un programa de control de Influenza Aviar efectivo tiene los siguientes elementos:

- Programas de diagnóstico, vigilancia integrada y comprensiva
- Incremento en la bioseguridad.
- Cuarentena o movimientos controlados de aves infectadas.
- En brotes de virus altamente patógenos, los programas de sacrificio son la primera línea de defensa. También se puede utilizar en brotes de baja virulencia con los virus de influenza aviar H5 y H7.
- Educación a avicultores sobre programas de control
- Compartir información a todo nivel.
- Vacunación (2).

4.2.11.2- **VACUNACIÓN**

Sólo es utilizada cuando se registra en un país un brote de IA en una zona con una alta concentración de población aviar y donde la aplicación de medidas rigurosas de bioseguridad sea incompatible con los sistemas modernos de avicultura. La vacunación es la primera opción para evitar que la infección se propague (2).

La eficacia de un programa de vacunación es inversamente proporcional a la duración del lapso que transcurre entre el diagnóstico inicial y la vacunación masiva, por lo que es importante que si se considera la vacunación una opción en un país dado, los planes nacionales de intervención deben prever disponibilidad de bancos de vacunas. Existen varios tipos de vacunas que han probado ser efectivas en el control de pérdidas de producción de huevos, mortalidad y morbilidad cuando las aves han sido desafiadas (2).

Los tipos de vacunas disponibles son:

Vacunas inactivadas homólogas o heterólogas:

Estas vacunas pueden contener exactamente la misma cepa de influenza que está causando el problema en un lugar determinado o una cepa que contenga la misma Hemoaglutinina (H) y una Neuraminidasa (N) diferente. El antígeno necesario para la protección es la hemaglutinina, por lo cual la neuraminidasa del virus vacunal puede ser diferente de la del virus de campo. Las vacunas inactivadas se han utilizado exitosamente para controlar brotes de Influenza Aviar en México, Pakistán, Italia y otros países. Al utilizar vacunas inactivadas, las aves vacunadas desarrollan anticuerpos contra el virus vacunal, produciendo resultados positivos en todas pruebas serológicas (HI, AGP, ELISA). Para diferenciar la respuesta a la vacunación de la infección de campo en lotes vacunados es necesario utilizar aves centinelas. Otra alternativa es utilizar la prueba para el Diagnóstico Diferencial de Aves Infectadas de Vacunadas (DIVA), esta prueba fue desarrollada en Italia y se basa en la identificación del antígeno Neuraminidasa (N) del virus de campo. Para aplicar

esta prueba es necesario que la Neuraminidasa del virus vacunal sea diferente de la del virus de campo. Por ejemplo, en Italia, el virus de campo presente es H7N3 y la vacuna utilizada contiene una cepa H7N1.

Vacunas recombinantes:

Se han desarrollado varios virus recombinantes de viruela aviar que expresan el antígeno H5, las aves vacunadas no desarrollan anticuerpos contra las nucleoproteínas del virus. La respuesta a estos antígenos es la que causa la positividad en la prueba de AGP. Esta característica permite diferenciar la respuesta a la vacuna de la infección de campo, utilizando la prueba de AGP, que será negativa en aves vacunadas y solamente se tornará positiva en el caso de aves expuestas al virus de campo. Otros vectores han sido utilizados para obtener antígenos H5 o H7, como el virus de la Laringotraqueítis Infecciosa.

Existe una vacuna subunitaria experimental que expresa la proteína de la Hemoaglutinina H5, del virus de IA, en un baculovirus de un insecto reproducido en cultivo celular.

El uso de vacunas para el control de la Influenza Aviar en parvadas ha sido tema de discusión. Históricamente, en muchos países los programas de vacunación contra Influenza Aviar altamente patógena han sido controlados por el gobierno. Además existen bases científicas que describen que desde que la vacunación se ha convertido en medida de prevención para la introducción de la enfermedad, ésta no detiene la propagación del virus hacia parvadas susceptibles. Otro punto importante es que no resulta práctico vacunar en forma preventiva contra todos los subtipos posibles, solo contra el subtipo que se encuentra afectando al país (2).

Las vacunas contra la superficie proteica de Hemoaglutinina proveen la mejor protección contra el desafío de la Influenza Aviar, pero la protección es limitada por ser específica de un subtipo. Las vacunas de Neuraminidasa también proveen protección contra el desafío de Influenza Aviar para subtipos homólogos de Neuraminidasas, pero las vacunas basadas en el tipo A específico de la nucleoproteina no proveen protección contra la enfermedad y mortalidad (2).

Existen tres tipos de tecnologías disponibles en la actualidad:

- Vacunas de virus complet.
- Recombinantes como el virus de Viruela Aviar con un gen insertado de hemoaglutinina de influenza.
- Sub-unidades de proteínas como la hemoaglutinina del virus de Influenza Aviar producidas en un sistema de cultivo celular con el virus de insectos llamados baculovirus, producido por ingeniería genética (2).

Con la vacuna recombinante de Viruela Aviar H5, la vacunación subcutánea al primer día de edad protegió contra la enfermedad en más del 80 % y contra la muerte en más del 90 % a los pollos vacunados cuando fueron desafiados con el virus altamente patógeno H5 mexicano hasta 20 semanas post-vacunación (2).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1.- Materiales

5.1.1.- Recursos humanos

- Estudiante investigador.
- 3 asesores médicos veterinarios.
- 1 trabajador de la granja.
- 1 auxiliar de campo.
- La comunidad.
- Técnico avícola del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación (MAGA).

5.1.2.- Recursos de laboratorio

5.1.2.1.- Inhibición de la Hemoaglutinación

- Micropipeta multicanal.
- Micropipeta monocanal.
- Puntas de micropipetas.
- Microplaca de 96 fosos fondo en U.
- Recipientes para reactivos.
- Cobertores para las placas.
- Congelador.
- Refrigerador.
- Timer.
- Solución buffer con pH 7.2.

5.1.3.- Recursos de campo

Jeringas de 3 ml con aguja 23 G x 1.

- Pajillas.
- Hielera.
- Hielo.
- Masking tape.
- Lapicero.

5.1.4.- Recursos biológicos

5.1.4.1.- Inhibición de la Hemoaglutinación

- Antígeno de Influenza Aviar y Newcastle titulado 4 dosis hemoaglutinantes.
- Glóbulos rojos al 1 % para HI, provenientes de pollos machos de 4 semanas no vacunadas.
- Sueros problema de aves de traspatio.
- Sueros problema de aves de la granja.

5.2.- Metodología.

5.2.1.- Diseño del estudio

El estudio realizado fue de tipo descriptivo longitudinal comparativo donde se determinó serológicamente la presencia de anticuerpos contra las enfermedades de Newcastle e Influenza Aviar por medio de la prueba de Inhibición de la Hemaglutinación (HI), en aves de traspatio y de la granja tecnificada.

El estudio se realizó en aves de traspatio que se encuentran alrededor de una granja avícola ubicada en la cabecera departamental de Chimaltenango Quintas No. 2, Lotificación Las terrazas en dirección occidente, en un radio aproximado de dos kms., estas aves se escogieron al azar y se tomaron

muestra de sangre para su posterior procesamiento. Se realizaron en algunos casos un sangrado, en otras dos y en el mejor de los casos tres con un intervalo de aproximado de 28 días entre cada uno.

Los resultados obtenidos de las aves de traspatio fueron comparados con los de la granja tecnificada en donde se realizaron tres sangrados con intervalo aproximado de 28 días.

5.2.2.- Muestreo

Se realizó un muestreo, tomando al azar aves de traspatio alrededor de la granja avícola tecnificada con un radio aproximado de 2 kms.

A continuación se presenta el nombre de las personas que poseían aves de traspatio y a las que se realizó sangrado en sus aves.

NOMBRE DEL PROPIETARIO
Densy Estela Argueta
María Paula Coroy
Ana María Canas
Elizabeth Soriato
María Tomasa Sanchez
Eva Mazariegos
Adelaida García
María Irene Montufar
Julieta Cifuentes
Zoila Girón
Mauro Salazar
Lety Barrios
María Judith
Bety Hernandez
María Mejía
Blanca Elva Roque
Rosa Salazar
Jorge Pérez
Alma Verónica Paz
María del Carmen Roque

María Salen
Zoyla Girón
Mauro Salazar
Consuelo Alarcón
Alma Montufar
María Rafaela Salguero
Ricardo Aguilar
Menonitas

A nivel de granja tecnificada se realizaron tres sangrados, con intervalos aproximados de 28 días.

5.2.3- Metodología de Campo:

Las muestras de sangre fueron tomadas en aves vivas, a nivel de la vena braquial del ala. Se expuso la vena por eliminación de plumas en la superficie ventral de la región humeral del ala.

Al extraer la sangre (1.5-3 ml) se depositaron cuidadosamente en una pajilla, la cual se selló. Se dejaron a temperatura ambiente para favorecer la formación del coágulo. Luego de formado el coágulo se pusieron en una hielera con hielo para ser transportados al laboratorio.

5.2.4- Metodología de Laboratorio:

Se utilizó la prueba de Inhibición de la hemoaglutinación, la cual consta de dos fases:

Prueba de HA para determinar el título del antígeno:

Se coloca la placa en posición vertical. Con una pipeta multicanal se colocan 50 microlitros de PBS en 5 columnas de placa. Luego se colocan 50 microlitros de antígeno puro en la primera fila de las columnas 1 a la 4 dejando

la columna 5 como control de glóbulos rojos. Se diluye en forma seriada el antígeno, agitando 6 veces, pasando 50 microlitros de la dilución a cada fila y al final se descartan los últimos 50 microlitros. Se agregan 50 microlitros de la suspensión de glóbulos rojos al 0.5 en cada pozo de la columna 1 a la 5. Se cubre la placa y se incuba a temperatura ambiente hasta que se forme un botón bien definido a la fila 5 (control de glóbulos rojos).

Después de 30 a 40 minutos, los pozos con una hemoaglutinación completa se toman como HA positivos, el último punto de la titulación es la dilución más alta del antígeno que causa una hemaglutinación. Se inclina la placa en ángulo de 45 grados y se busca la formación de una lágrima lo que indica que no hay hemaglutinación. El punto final de la titulación es la más alta dilución de antígeno que causa completa hemaglutinación y este es considerado como una dosis hemoaglutinante. La dilución de antígeno que se va a utilizar es determinada al dividir el punto final de la titulación dentro de la dosis hemoaglutinantes requeridas.

Prueba de HI por el método beta (alterno)

Se coloca la microplaca en posición vertical. Se agregan 50 microlitros de PBS con la pipeta multicanal en toda la fila 12 (control de glóbulos rojos) y en toda la columna H (control de antígeno). Con una pipeta multicanal adicionar 50 microlitros de antígeno con la dosis hemoaglutinante requeridas en cada pozo de la columna A, hasta la columna G de la fila 1 a 11. Se agregaron 50 microlitros de los sueros problema en la línea 1 de la columna A a la F, dando como resultado una dilución 1:2. Se mezcla 6 veces transfiriendo 50 microlitros a la próxima y así sucesivamente hasta llegar a la línea 11, descartando los últimos 50 microlitros. Se cubre la placa y se incuba a temperatura ambiente por 10 minutos.

Después de transcurrido este tiempo se adicionan a toda la placa 50 microlitros de la solución de glóbulos rojos. Se agita, se cubre y se incuba a la placa a temperatura ambiente hasta que los pozos del suero control positivo conocido formen un botón bien definido de glóbulos rojos sedimentados.

Después de 45 minutos se inclina la placa en un ángulo de 45 grados y se busca la mayor dilución de suero que muestra una completa inhibición de la hemaglutinación y esto determina el título correspondiente a cada suero.

5.3.- Análisis estadístico:

Para comparar el nivel de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle, se realizó una prueba de hipótesis para la diferencia de promedios entre los títulos de anticuerpos circulantes de las aves de traspatio alrededor de la granja y las aves dentro de la granja.

Para comparar el nivel de anticuerpos contra la enfermedad de Influenza Aviar, se realizó una prueba de hipótesis para la diferencia de proporciones entre la presencia de anticuerpos circulantes de las aves de traspatio alrededor de la granja y las aves dentro de la granja.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la realización del presente trabajo, se evaluaron dos grupos de aves, las aves de la granja tecnificada y las aves de traspatio circundantes a la misma.

En los dos grupos de aves se realizaron tres muestreos con un intervalo de 28 días aproximadamente. Desde el primer sangrado la granja tecnificada presento títulos log 2 de 8 y 9 para la enfermedad de Newcastle que indican que hay afección del virus de campo. En el segundo y tercer sangrado se observan títulos log 2 de 8 a 11 los cual nos indican que el virus de campo de Newcastle se mantiene en la granja.

En el caso de las aves de traspatio un grupo de aves presentó títulos log 2 de 7 y 8, que indican que las aves han sido expuestas al virus de campo de Newcastle. Cierto grupo de aves se consideran como aves desprotegidas debido a que los títulos oscilan entre log 2 de 0 a 3. Las aves de traspatio que presentan anticuerpos log 2 de 4 a 7, se cree que han recibido en algún momento vacunaciones contra el virus de Newcastle, o han sido expuestas a un virus lentogénico de Newcastle. Las aves de una granja semitecnificada monitoreada presentó títulos log 2 de 8 y 11 lo que indica que las aves han expuesta al virus de campo de Newcastle.

El resultado de las aves de otra granja semitecnificada, un bajo porcentaje está en el rango log 2 de 4 y 5 por lo que se consideran como protegidas por vacunación para la enfermedad de Newcastle. El resto de este mismo grupo está en el rango de log 2 de 0 a 3 siendo susceptibles a la enfermedad de Newcastle.

En el caso del monitoreo realizado para Influenza Aviar, en la granja tecnificada no hay títulos que indiquen una exposición al virus de campo tanto en el primer como en el segundo sangrado ya que se detectaron títulos que oscilan entre log 2 de 0 a 3, considerándose aves negativas contra la enfermedad de Influenza Aviar. En el tercer sangrado los títulos obtenidos log 2 de 4 a 6 indican que las aves han recibido vacuna oleosa contra el virus de Influenza Aviar y están en rango de protección.

Para el monitoreo de Influenza Aviar en aves de traspatio un grupo presentó títulos en el rango de log 2 de 5 a 8 que indican una exposición de campo al virus de Influenza Aviar.

En el caso de las aves de una de las granjas semitecnificadas mostraron títulos log 2 entre 4 a 7 los cuales se interpretan como aves que han recibido la vacuna oleosa de Influenza Aviar.

VII. CONCLUSIONES

- La granja tecnificada presentó desde el primer sangrado títulos contra la enfermedad de Newcastle que indican que las aves han sido expuestas al virus de campo debido a los títulos altos detectados.
- 2. En algunas de las aves de traspatio monitoreadas presentaron desde el primer sangrado títulos contra la enfermedad de Newcastle que indican que han sido expuestas al virus de campo, la mayoría de ellas están susceptibles de padecer la enfermedad ya que no poseen programa de vacunación.
- A pesar de que algunas aves de traspatio han sido expuestas al virus de campo de Influenza Aviar, las aves de la granja tecnificada se encontraban con títulos protectores debido a la vacuna.

VIII. RECOMENDACIONES

- 1- En el caso de la granja tecnificada se recomienda implementar un programa de vacunación contra Newcastle con vacunas vivas combinadas con vacunas oleosas para contrarrestar efectos de virus de campo.
- 2- Coordinar con el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, un plan de vacunación contra la enfermedad de Newcastle e Influenza Aviar en aves de traspatio.
- 3- Desarrollar y cumplir un programa de bioseguridad para la granja tecnificada.

.

IX. RESUMEN

En el presente trabajo se determina el efecto que podrían causar las aves de traspatio a una granja tecnificada, ubicada en el departamento de Chimaltenango, en relación a las enfermedades respiratorias de Newcastle e Influenza Aviar.

Se realizaron tres sangrados, tanto en aves de la granja tecnificada como en las aves de traspatio, en este último grupo se tuvo el inconveniente de no poder realizarse en algunas aves los tres sangrados, por lo que en algunos se realizaron un sangrado en otros dos y en otros tres.

Los resultados obtenidos a través de HI, concretamente nos indican que en el caso de la Enfermedad de Newcastle, la granja tecnificada por diversas razones mantiene títulos demasiado altos en relación a las aves de traspatio, no así las aves de traspatio, por lo que se llega a la conclusión de que las aves de traspatio no representan ningún problema para la granja tecnificada.

En el caso de la Enfermedad de Influenza Aviar, se determinó que la granja tecnificada no presenta títulos positivos a la misma, así mismo las aves de traspatio no representan un peligro para la granja tecnificada, por sus títulos bajos.

X. BIBLIOGRAFÍA.

- Accesoplus. IICA (Instituto Interamericano de Cooperación Agrícola). 2004. Hechos relevantes sobre la Influenza Aviar (IA) H5N1 (en línea) Consultado 9 ago. 2005. Disponible en www.infoagro.net/shared/docs/a3/HECHOSINFLUENZA.pdf
- Berríos E. P. 2004. Influenza aviar asiática (en línea) Consultado 9 ago. 2005. Monografías electrónicas de patología veterinaria. Disponible en http://patologiarinaria.cl/Monografias/Numero1/04.htm
- 3. Brock, TD. 1998. Biología de los Microorganismos. Trad. Mg Fernández y otros. Madrid, ES, Prentice-Hall Internacional. 1000 p.
- 4. Calnek, BW. 1995. Enfermedades de las Aves. México, El Manual Moderno. 1147 p.
- Directrices Regionales para la elaboración de análisis. 2003. Influenza aviar altamente patógena (Peste aviar). Enfermedad de Newcastle. (en línea) Consultado 22 sep. 2005. Disponible en www.oirsa.org/UNAVARS/Guia- Practica/Indice.htm
- Dustan Clark, F. 2002. Protegiendo a las aves (silvestres) de jaula y de aviarios contra la enfermedad de Newcastle tipo exótica (en línea) Consultado 22 sep. 2005. Clemson University. Disponible en http://www.clemson.edu/ep/Exotic Newcastle3.htm
- 7. Enfermedad de Newcastle. 2003. (en línea) Consultado 22 sep. 2005. disponible en http://fmvz.uat.edu.mx/anuncios/newcastle.htm
- 8. Enfermedad de Newcastle. NTP 411: Zoonosis de origen laboral. sf. (en línea) Consultado 22 sep. 2005. Disponible en elergonomista.com/ntp_411.htm
- Helm, Julie. 1999. Influenza aviar Generalidades (en línea) Consultado 9 ago. 2005. Disponible en <u>engormix.com</u>

- Infovet No.67. s.f. Influenza aviar: La vigencia de una vieja enfermedad (en línea). Consultado 9 ago. 2005. Disponible en www.fvet.uba.ar/vigenciainfluenza.htm
- 11. Influenza Aviar. s.f. Servicio de ganadería-Negociado de Epizootiología. 17 p. (Folleto de presentación, en Power Point. Supeditado a la Corona Real)
- 12.La enfermedad de Newcastle exótica de las aves. 2003. (en línea) Consultado Disponible en http://www.agr.wa.gov/FoodAnimal/animalhealyh/ diseases/exotic-newcastle/HechosNewcastleExotica.pdf
- 13. Los criadores de pollos alertados por la enfermedad Exotic Newcasstle por Cecilia Baquireza y traducido al español por Frida Bonaparte. 2003. (en línea) Consultado 22 sep. 2005. Disponible en http://www.aphis.usda.gov/pa/ussues/
- 14. enc/exoticnc.html
- 15. Minessota Board of Animal Health (Consejo de Minessota para la Salud Animal). s.f. (en línea) Consultado 22 sep. 2005. Disponible en www.bash.state.mn.us
- 16. News & Info. 2003. Enfermedad exótica de Newcastle (en línea) Consultado 22 sep. 2005. Disponible en http://www.aphis.usda.gov/pa/pubs/fsheet_faq_notice
- 17.OIE (Organismo Mundial de Sanidad Animal). 2002 (a). Enfermedad de Newcastle (en línea) Consultado 22 sep. 2005. Disponible en http://www.oie.int/
- 18._____. 2002. (b). Influenza aviar altamente patógena (peste aviar). (en línea). Consultado 9 ago. 2005. Disponible en http://wwwoie.int/
- 19. Ramírez de Noguera, C. 2003. La enfermedad de Newcastle: síntomas y lesiones (en línea) Consultado 22 sep. 2005. Revista digital del Centro

- Nacional de investigaciones Agropecuarias de Venezuela Disponible en http://www.ceniap.gov.ve/ve/ceniaphoy/articulos/n2/texto/cramirez.htm
- 20. Saninet. IICA. 2003. Enfermedad de Newcastle velogénico viscerotrópico (en línea) Consultado 22 sep. 2005 Disponible en www.cdfa.ca.gov/ahfss/ah/pdfs//V_V_N_Dspanish.pdf
- 21. SENASA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos). 2003. Influenza aviar altamente patógena (en línea) Consultado 9 ago. 2005. Plan Nacional de Sanidad Avícola. Manual de procedimientos. Disponible en www.sagpya.mecon.gov.ar/new/0.0/programas/sanidad_avicola/influenza_A viar.pdf
- 22. Tizard, I. 2000. Inmunologia Veterinaria. 6 ed. Mexico, McGraw Hill / Interamericana. 531 p.
- 23. Universidad de California. Recomendaciones para prevenir la Dispersión de la Enfermedad de Newcastle. s.f. (en línea) Consultado 22 sep. 2005. Disponible en <u>animalscience.ucdavis.edu/Avian/shortcontrolENDspanish2.pdf</u>
- 24.USDA, APHIS, Veterinary services. 2002. Influenza aviar altamente patógena (en línea) Consultado 9 ago. 2005. Disponible en http://www.aphis.usda.gov
- 25. Viamontes. O. 2003. Estrategia de inmunización contra la enfermedad de Newcastle. Cosultado 22 sep. 2005. Revista cubana de Ciencia Avícola. 27:89- 94. Disponible en http://www.iia.cu/
- 26. Vindevogel, H; Duchatel, P. 1985. Paramixovirosis: Para el entendimiento de la paramixovirosis de las palomas (en línea) Consultado 22 sep. 2005. Disponible en http://www.arrakis.es/~oscarlt/articulos/art/salud_paramixo2.htm
- 27. Visión veterinaria. 2003. ABC de la enfermedad de Newcastle (en línea) Consultado 9 ago. 2005. Disponible en http://www.oie.int/

X. ANEXOS

Cuadro No. 1

Títulos de Anticuerpos séricos contra la enfermedad de Newcastle en 3 muestreos realizados con un total de 51 aves, con intervalo de 1 mes entre cada uno, en una granja avícola tecnificada, en la cabecera departamental de Chimaltenango.

NUMERO DE AVES	TÍTULOS Log 2
2	0-3
18	4-7
31	8-11
51 TOTAL DE AVES	

Cuadro No. 2

Título de anticuerpos séricos contra la enfermedad de Newcastle en 1,2 y 3 muestreos realizados con un total de 202 aves, con intervalo de 1 mes entre cada uno, en aves de traspatio circundantes a una granja tecnificada ubicada en el departamento de Chimaltenango.

NUMERO DE AVES	TÍTULOS Log 2
92	0-3
79	4-7
31	8-11
202 TOTA DE AVES	

Cuadro No. 3

Títulos de anticuerpos séricos contra la enfermedad de Influenza Aviar en 3 muestreos realizados con un total de 51 aves, con intervalo de 1 mes entre cada uno, en una granja avícola tecnificada en la cabecera departamental de Chimaltenango.

NUMERO DE AVES	TÍTULOS Log 2
49	0-4
2	5-8
51 TOTAL DE AVES	

Cuadro No. 4

Títulos de anticuerpos séricos contra la enfermedad de Influenza Aviar en 1,2 y 3 muestreos realizados con un total de 202 aves, con intervalo de 1 mes entre cada uno, en aves de traspatio circundantes a una granja tecnificada ubicada en el departamento de Chimaltenango.

NUMERO DE AVES	TÍTULOS Log 2
168	0-4
34	5-8
202 TOTAL DE AVES	