

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



**“DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS DE INFLUENZA
AVIAR Y NEWCASTLE EN AVES DE TRASPATIO DE LAS
COMUNIDADES CIRCUNDANTES A LAS GRANJAS
AVÍCOLAS DE REPRODUCTORAS DEL MUNICIPIO DE
SAN JOSÉ PINULA, DEL DEPARTAMENTO DE
GUATEMALA”**

MÉLODY MARILÚ DONIS PADILLA

Médica Veterinaria

GUATEMALA, JUNIO DE 2012

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



**“DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS DE INFLUENZA AVIAR Y
NEWCASTLE EN AVES DE TRASPATIO DE LAS COMUNIDADES
CIRCUNDANTES A LAS GRANJAS AVÍCOLAS DE
REPRODUCTORAS DEL MUNICIPIO DE SAN JOSÉ PINULA, DEL
DEPARTAMENTO DE GUATEMALA”**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

MÉLODY MARILÚ DONIS PADILLA

Al conferírsele el título profesional de

Médica Veterinaria

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, JUNIO DE 2012

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

“DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS DE INFLUENZA AVIAR Y NEWCASTLE EN AVES DE TRASPATIO DE LAS COMUNIDADES CIRCUNDANTES A LAS GRANJAS AVÍCOLAS DE REPRODUCTORAS DEL MUNICIPIO DE SAN JOSÉ PINULA, DEL DEPARTAMENTO DE GUATEMALA”

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar el título profesional de:

MÉDICA VETERINARIA

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

DECANO:	M.V. Leonidas Avila Palma
SECRETARIO:	M.V. Marco Vinicio García Urbina
VOCAL I:	Lic. Sergio Amílcar Dávila Hidalgo
VOCAL II:	M.V. MSc Dennis Sigfried Guerra Centeno
VOCAL III:	M.V. Mario Antonio Motta González
VOCAL IV:	MEP Javier Enrique Baeza Chajón
VOCAL V:	Br. Ana Lucia Molina Hernández

ASESORES

M.V. M.Sc. Consuelo Beatriz Santizo Cifuentes
M.V. M.Sc. Mauro Francisco Escobar Serrano
M.V. Carlos Enrique Camey Rodas

DEDICATORIAS

- A Dios: Por darme la vida, la oportunidad y por celebrar uno de mis sueños mas importantes en mi vida, por ayudarme a levantarme en mis fracasos y por aprender de ellos.
- A mis padres: Amory Donis y Cynthia de Donis por haberme brindado los recursos necesarios para continuar con mi formación, quienes permanentemente me apoyaron con su espíritu alentador, por estar siempre a mi lado apoyándome, aconsejándome y contribuyendo incondicionalmente a lograr mis metas dándome las fuerzas que me impulsaron para conseguirlo, por ser un ejemplo de vida e inspiración.
- A mi esposo: Erick por su ayuda, perseverancia y amor incondicional, por brindarme la fuerza necesaria para continuar dándome ánimos y por estar siempre a mi lado.
- A mis hijas: Tamara y Valentina por ser mi motivación y motor para seguir adelante todos los días, por ser la razón de todos mis esfuerzos y por existir en mi vida.
- A mis hermanos: Steffany y Edgar Amory por su cariño, comprensión, colaboración en todo momento y por brindarme aliento, por estar siempre conmigo.
- A mis asesores: Dra. Beatriz Santizo, Dr. Francisco Escobar, Dr. Carlos Camey, por su paciencia, cariño y apoyo en todo momento.
- A mis amigos: Gracias por tantas alegrías y tristezas compartidas y por sobre todo gracias por su amistad.
- A mis familiares: Gracias por todo su apoyo, cariño y por estar siempre a mi lado.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de San Carlos de Guatemala

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

A Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

A mi familia

A mis profesores

Al Programa Nacional de Sanidad Avícola

Al Laboratorio de Ornitopatología y Avicultura

A todas las personas que colaboraron de una u otra forma para la realización de este trabajo, mil gracias.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	OBJETIVOS.....	3
	2.1 General.....	3
	2.2 Específicos.....	3
III.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
	3.1 Enfermedad de Newcastle.....	4
	3.1.1 Agente Etiológico.....	4
	3.1.2 Transmisión.....	5
	3.1.3 Distribución.....	6
	3.1.4 Sintomatología.....	6
	3.1.5 Lesiones macroscópicas.....	8
	3.1.6 Lesiones microscópicas.....	8
	3.1.7 Diagnóstico.....	9
	3.1.8 Tratamiento.....	10
	3.1.9 Prevención y control.....	10
	3.2 Enfermedad Influenza Aviar.....	11
	3.2.1 Agente etiológico.....	11
	3.2.2 Transmisión.....	12
	3.2.3 Distribución.....	13
	3.2.4 Especies susceptibles.....	13
	3.2.5 Sintomatología.....	13
	3.2.6 Lesiones macroscópicas.....	14
	3.2.7 Lesiones microscópicas.....	15
	3.2.8 Diagnóstico.....	15
	3.2.9 Tratamiento.....	16
	3.2.10 Prevención y control.....	17
	3.2.11 Importancia en salud pública.....	17
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
	4.1 Materiales.....	18
	4.1.1 Recursos humanos.....	18
	4.1.2 Recursos de campo.....	18
	4.1.3 Recursos de laboratorio.....	19
	4.1.4 Recursos biológicos.....	20

4.1.5 Centros de referencia.....	20
4.2 Métodos.....	20
4.2.1 Área de estudio.....	21
4.2.2 Variable a medir.....	21
4.2.3 Diseño de estudio.....	21
4.2.4 Recolección de muestras en campo.....	22
4.2.5 Metodología de laboratorio.....	22
4.2.5.1 Inmunodifusión en Agar Gel.....	22
4.2.5.2 Inhibición de la hemoaglutinación.....	23
4.2.6 Análisis de datos.....	25
4.2.7 Localización.....	25
4.2.8 Tamaño de la muestra.....	26
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	28
VI. CONCLUSIONES.....	38
VII. RECOMENDACIONES.....	39
VIII. RESUMEN.....	40
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	42

I. INTRODUCCIÓN

En Guatemala, la industria avícola ha venido tecnificándose cada año y actualmente se ha convertido en una actividad agropecuaria económicamente más significativa para el país. Las finalidades zootécnicas de mayor explotación en esta industria, son la producción de carne y producción de huevo.

Debido a la importancia de la avicultura en Guatemala, y el proceso globalizante, se ha dado énfasis en los programas de prevención y control de las enfermedades principalmente en las aves de traspatio ya que son un riesgo potencial para las granjas de producción, además de ser un foco de infección debido a que conviven varias especies aviares en un solo lugar, además de que en la mayoría de los casos se encuentran circundantes a las granjas o en casas de los mismos trabajadores; por ello es necesario implementar programas de prevención y control de las enfermedades aviares endémicas como exóticas.

Se considera a nivel mundial, que la enfermedad de Newcastle, es la enfermedad más común y una de las más difíciles de controlar en las explotaciones avícolas, es causada por un *paramyxovirus*, se caracteriza por presentar síntomas de carácter respiratorio, digestivo y nervioso en las aves y causa grandes pérdidas económicas por producir una elevada mortalidad y gran disminución en la postura de huevo.

La enfermedad de Influenza Aviar es causada por un *orthomixovirus*, fué diagnosticada en Guatemala en marzo del año 2000 y la cepa fue clasificada como H5N2 de baja patogenicidad, la sintomatología de esta enfermedad es

bastante parecida a la de Newcastle, por lo cual es necesario hacer un diagnóstico diferencial a nivel de laboratorio.

En esta investigación se determinó la presencia o ausencia de anticuerpos de las enfermedades antes mencionadas en explotaciones de aves de traspatio circundantes a granjas de producción en el municipio de San José Pinula, Departamento de Guatemala, por medio de las pruebas de Inhibición de la Hemoaglutinación para la enfermedad de Newcastle y para la enfermedad de Influenza aviar la prueba de Inmunodifusión en Agar Gel, para así poder establecer el estatus sanitario del área.

II. OBJETIVOS

2.1. General:

- Generar información para establecer el estatus sanitario en relación a las enfermedades de Influenza Aviar y Newcastle en las aves de traspatio de las comunidades circundantes a las granjas avícolas de reproductoras del Municipio de San José Pínula, Guatemala.

2.2. Específicos:

- Determinar la presencia de anticuerpos en las aves de traspatio, de las comunidades circundantes a las granjas avícolas de reproductoras del Municipio de San José Pínula, Guatemala, en relación a la enfermedad de Influenza Aviar.
- Determinar la presencia de anticuerpos en las aves de traspatio, de las comunidades circundantes a las granjas avícolas de reproductoras del Municipio de San José Pínula, Guatemala, en relación a la enfermedad de Newcastle.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Enfermedad de newcastle

La enfermedad de Newcastle es una enfermedad altamente contagiosa, y frecuentemente fatal en aves, es producida por un paramyxovirus de la familia paramyxoviridae; presenta una sintomatología muy variable, existiendo variantes tan virulentas que afectan inclusive aves previamente inmunizadas.

Se han realizado diversas clasificaciones dependiendo de su virulencia, su patogenicidad y de su área de afección, complicando en ocasiones su nomenclatura. Muchas especies silvestres pueden no presentar sintomatología y en el caso de los psitácidos desarrollan una afección persistente; ha sido aislado también en camarones y columbiformes silvestres. Puede ser transmitido y producir sintomatología clínica en humanos. (5)(6)(8)(10)

3.1.1. Agente etiológico

La enfermedad es causada por el virus PMV-1 de la familia paramyxoviridae, compuesto de cadena única linear de ARN con simetría de hélice, de genoma sencillo no segmentado de polaridad negativa. El genoma total es de aproximadamente 16,000 nucleótidos, su replicación se da a nivel de citoplasma de la célula huésped. Existen 9 serotipos reconocidos, además es un virus hemoaglutinante. (2)(3)(5)

Tiene actividad hemoaglutinante y de neuroaminidasa, es así como se clasifican todos los paramyxovirus, el virus PMV-1 en específico es muy variable, presentando cepas de alta y baja patogenicidad. (3)

3.1.2. Transmisión

Horizontal, por contacto entre aves infectadas, secreciones, aerosoles, fómites, medios de transporte, agua, alimento. Es altamente transmisible en grandes concentraciones de aves. Se da por dos vías principales, inhalación e ingestión. Durante la enfermedad hay grandes liberaciones de virus en heces, así como en gotitas procedentes del aparato respiratorio. (3)(9)(10)

La transmisión vertical no está reconocida como tal, a pesar de que hay aves pollitos que nacen con la infección presente, el virus puede atravesar el cascaron, proveniente de las heces de la madre, lo que complica evaluar la procedencia de la infección. Existen reportes de huevos con embriones infectados y muertos durante la incubación, y estos son altamente infectivos. (3)(9)(10)

El virus sobrevive varias semanas en ambientes húmedos y templados, tanto en plumas de las aves como en materiales orgánicos. En psitácidos del género amazona se ha reportado diseminación del virus de animales asintomáticos por 400 días, tiempo mucho mayor que el de las aves de corral que es de aproximadamente 14 días. (3)(8)

El período de incubación es de 2 a 15 días, que depende de si se observa sintomatología o no y de la cepa que afecta. Persiste en agua por 21 días y en cadáveres a temperatura cálida por 7 días. (1)(9)(10)

3.1.3. Distribución

Cosmopolita en sus diferentes variantes. Por su importancia en producción avícola se controla el intercambio de especímenes potencialmente enfermos o portadores, no existen estudios acerca de su transmisión por aves migratorias, aunque se identifican a los anátidos como altamente resistentes. (1)(2)

3.1.4. Sintomatología

No siempre se observa sintomatología clínica, depende de la cepa que afecta al ave, edad, especie del huésped, estado inmune, dosis de exposición y estrés ambiental. Cuando se puede observar sintomatología, es común clasificarlas de acuerdo a los patotipos conocidos, como presentación velogénica viscerotrópica, velogénica neurotrópica, mesogénica, lentogénica.

En casos de cepas muy virulentas, puede haber muerte súbita sin sintomatología. (1)(2)(3)

➤ Velogénica viscerotrópica

Presenta edema de la cara, problemas respiratorios, cianosis por la presión del edema craneal y la baja circulación, depresión, diarrea verdosa.

Generalmente inicia con apatía, hiperpnea, debilidad continua con postración y finaliza con la muerte del ave, pudiendo en cualquiera a todas estas fases presentar temores, tortícolis, parálisis y opistótonos. (3)(6)(9)(10)

➤ **Velogénica neurotrópica**

Inicia con una afección respiratoria severa, seguida por signos nerviosos, tortícolis, opistótonos, parálisis de las alas y patas, conjuntivitis, huevos fáfáros o deformes, presentando una morbilidad de 100%; una mortalidad de 50% en aves adultas y en jóvenes de 90%. No hay lesiones intestinales y hay ausencia de diarrea. (4)(6)(9)(10)

➤ **Mesogénica**

Se caracteriza por presentar problemas respiratorios, baja en la postura, con o sin presencia de signos nerviosos, existe mortalidad baja y depresión de las aves. La mortalidad es baja en aves jóvenes excepto en aves muy susceptibles o estresadas. (3)(6)(9)(10)

➤ **Lentogénica**

Por lo general no produce enfermedad en aves adultas, la sintomatología es leve y causa baja morbilidad en aves jóvenes. Su afección es principalmente económica en aves cercanas a sacrificio ya que produce aerosaculitis y/o colisepticemia, causando el decomiso del ave. (3)(6)(9)(10)

3.1.5. Lesiones macroscópicas

Son muy variables y son dependientes a la cepa que afecte, y la especie afectada, el nivel de presencia del virus en el hospedero y el nivel de inmunidad que el ave posea previa a la infección, no existen lesiones patognomónicas. (1)(6)(9)(10)

Suelen encontrarse lesiones hemorrágicas y tapones de sangre en tráquea, lesiones hemorrágicas en proventrículo, erosión de la cloaca, hemorragias entéricas, tonsilas cecales hemorrágicas, aerosaculitis, folículos ováricos degenerados. (1)(3)(6)

Las lesiones en aparato digestivo están por lo general en proventrículo, ciegos, intestino delgado en general, hemorragias extensas en la pared intestinal y focos linfoides. (1)(3)(6)

3.1.6. Lesiones microscópicas

Al igual que la sintomatología y las lesiones macroscópicas, dependen de la especie avícola, cepa, vía y dosis infectiva que afecten al huésped. (1)(3)(6)

Se observa hialinización de los capilares y arteriolas, trombosis hialina en vasos pequeños, necrosis endotelial en vasos sanguíneos, destrucción de linfocitos y degeneración de la bursa. Las células ciliadas del aparato respiratorio pierden cilios a dos días de la infección, se observa infiltración celular compuesta

de linfocitos y macrófagos. En algunos casos se observan lesiones necróticas en hígado, infiltración linfocítica en páncreas. (3)

En hembras se observa atresia de folículo con infiltración de células inflamatorias y formación de agregados linfoides. (1)(3)

3.1.7. Diagnóstico

Diagnóstico presuntivo se puede realizar por necropsia, lesiones en tracto respiratorio y digestivo. No existe lesión patognomónica asociada a ninguna especie avícola ni a cepa infectiva. Se requiere laboratorio para confirmar diagnóstico. (1)(2)(3)

Se utilizan pruebas serológicas, entre estas pruebas están:

- ELISA
- PCR
- Secuencia de ADN
- Inhibición de la hemoaglutinación
- Neutralización el placa
- Inmunodifusión radial
- Hemolisis radial
- Precipitina en agar
- Cultivos celulares primarios para aislar el virus (1)(2)

Diagnóstico diferencial con:

- Bronquitis infecciosa

- Coriza infecciosa
- Influenza aviar
- Encefalomiелitis
- Intoxicaciones

Muestra remitir para diagnóstico:

- Suero sanguíneo
- Hisopados de tráquea y cloaca
- Muestras histológicas de pulmón
- Cerebro
- Hígado y riñón

3.1.8. Tratamiento

No existe, solo el control de infecciones secundarias. (3)(6)(8)(9)

3.1.9. Prevención y Control

Evitando el ingreso y diseminación del virus, esto se logra por medio de restricciones comerciales a países infectados, decomiso de aves por medio y productos aviares, cuarentena obligatoria, legislación de reporte obligatorio de la enfermedad a las autoridades. A nivel de granja, la premisa es bioseguridad, control de aves silvestres, compra de aves de fuente conocidas y sanas, vacunación. (3)(9)

Aislamiento de brotes, destrucción de aves expuestas, limpieza y desinfección de aéreas afectadas. Disposición correcta de cadáveres, control de plagas, descanso de 21 días al área donde hubo aves afectadas, restricción del tráfico humano. (6)(10)

3.2. Enfermedad Influenza Aviar

En general es una afección causada por virus de influenza A perteneciente a la familia de los orthomixovirus, afectando a mamíferos y aves. Por sus propiedades, es transmisible y transportable por diversas especies aviares, variando grandemente en su patogenicidad de especie a especie; variando también sus tasas de mortalidad y morbilidad. Para su diagnóstico se utilizan los signos clínicos, la historia y finalmente la serología. Es una enfermedad de alta importancia en salud animal, por sus variantes genéticas, su transmisión, las implicaciones epidemiológicas al verse afectadas aves silvestres migratorias, y las económicas al afectar poblaciones de aves domésticas con fin reproductivo.

3.2.1. Agente etiológico

Orthomixovirus de influenza aviar tipo A. existen 17 grupos basados en hemoaglutinina y 9 basados en neuroaminidasa, que combinados generan las diversas variantes antigénicas del mismo virus. Para su nomenclatura se utiliza la H de hemoaglutinina y la N de neuroaminidasa seguidas de número de la variante. (3)(4)

El virus pleomorfo, de cadena AR, con simetría hélica y proyecciones de glicoproteína de la envoltura que tienen actividad hemoaglutinante y neuroaminidasa. Se replica en el núcleo de la célula que afecta.

La configuración antigénica del agente no determina su patogenicidad ni su especificidad por completo, el virus es extremadamente variable, pudiendo producir naturalmente en aves silvestres infecciones con dos o más variantes en un solo individuo. (3)(4)(11)

3.2.2. Transmisión

Horizontal (aerosoles, heces, personal, fómites). No existe transmisión vertical dado que el embrión muere dentro de los huevos puestos en período de virulencia. (4)(11)

Resistencia del virus:

En heces 30 días a 4 grados °C, 7 días a 20 grados °C. ejemplos de su resistencia incluyen la recuperación de virus en heces 105 días después de la despoblación de un galpón y de estanques y cuerpos de agua mientras las aves migratorias estuvieron presentes. (3)(4)

Período de incubación:

De 0 a 7 días, dependiendo de la patogenicidad del virus, la dosis infectiva, la vía de infección, se utiliza un promedio de 3 días. (3)(4)(11)

3.2.3. Distribución

Cosmopolita, variantes antigénicas se distribuyen en diferentes continentes, aunque estudios recientes confirman que su distribución se encuentra ligada a aves silvestres, migratorias y residentes, no solo a la población de aves domésticas. (3)(4)(11)

3.2.4. Especies susceptibles

Aves en general, los anátidos presentan infección subclínica, generalmente con infecciones entéricas, transformándose en portadores asintomáticos que diseminan virus por largos períodos. Algunos mamíferos son susceptibles a algunas variantes del virus, conformado en cerdos, humanos, hurones, focas, equinos, y gatos. (5)(7)

Dentro de las poblaciones domésticas las aves involucradas con mayor frecuencia, son los pavos, seguidos por los pollos. Se han confirmado infecciones en aves silvestres migratorias, aves playeras, marinas, psitácidos, faisanes, perdices y gansos. (3)(5)(7)

3.2.5. Sintomatología

Hay muchas variantes, dependiendo de la especie, sexo, edad, infecciones secundarias, ambiente, entre otras la sintomatología de la misma variante puede cambiar.

Asociada principalmente con infecciones medias o subclínicas con sintomatología respiratoria, presentando sinusitis, estertores, tos, lagrimeo, anorexia, estornudos, emaciación, aumento de cloquera en gallinas, baja postura, plumas erizas, edema cefálico, diarrea y trastornos nerviosos. (3)

En casos de alta patogenicidad, la muerte ocurre en 24 a 48 horas, presentando secreciones sanguinolentas, desordenes neurales, áreas de piel desnuda, edema cefálico, diarrea, huevos deformes o fárfaros, parálisis, convulsiones y muerte súbita. (4)(5)(7)(11)

La morbilidad y mortalidad están mal definidas, pudiendo variar ambas desde irrelevantes hasta el 100%. Esto ocurre debido a que están ligados directamente a la cepa, el huésped, medio ambiente, infecciones secundarias, edad y tamaño de la población. (3)(5)(11)

3.2.6. Lesiones macroscópicas

Inflamación catarral, fibrinosa, serofibrinosa, mucopurulenta o caseosa en senos. Edema de la mucosa traqueal, con exudado seroso o caseoso. Engrosamiento de sacos aéreos, con presencia de exudado. Enteritis catarral o fibrinosa. Salpingitis en reproductoras. (3)(5)

En casos de alta patogenicidad puede no observarse lesión alguna por tratarse de afecciones fulminantes. De encontrarse lesiones pueden ser desde una deshidratación leve hasta observar hemorragia y congestión de serosas y

mucosas, consolidación pulmonar, caseificación que involucra sacos aéreos, necrosis focal en piel y órganos internos. Hemorragias petequiales en corazón, pechugas y muslos. Hipertrofia de cresta y barbillas, páncreas con manchas amarillas y rojas. (4)(5)(7)(11)

3.2.7. Lesiones microscópicas

En casos clínicos de infección natural se han reportado cefalitis no supurativa, pancreatitis necrotizante, mioscitis necrotizante afectando músculos esqueléticos y oculares, infiltración de macrófagos y linfocitos en focos neumónicos. La miocarditis y la necrosis linfoide son lesiones, frecuentemente observadas en infecciones experimentales. (3)(5)

3.2.8. Diagnóstico

Lesiones observadas en necropsia aunadas a la anamnesis son parte del diagnóstico, el diagnóstico definitivo depende del aislamiento e identificación del virus.

El virus se recupera frecuentemente de heces, cloaca, hisopados orofaríngeos en aves vivas, por ser las principales vías de transmisión. A la necropsia se recomienda obtener muestras de tráquea, pulmón, sacos aéreos e intestino, como órganos indispensables, pudiendo obtener también muestras de bazo, riñón, cerebro, hígado y corazón, ya sean por separado o en conjunto ya sea en infecciones con cepas altamente patógenas, cualquier órgano es útil. (3)(4)(7)(12)

Aislamiento viral por inoculación de embriones se realiza con embriones de 10 a 11 días de edad, manteniéndolos en incubación y observándolos, se espera la muerte por el virus de influenza en 48 a 72 horas, la replicación viral se comprueba observando actividad hemoaglutinante sobre eritrocitos en el líquido alantoideo. Ya con el virus aislado, se procede a su identificación por pruebas con antisuero y evidenciando la porción de hemoaglutinina y de neuroaminidasa que posee el virus aislado. (4)(5)(7)(8)

Las pruebas serológicas son útiles después de 7 días de sucedida la infección. Las más comúnmente utilizadas son: Inhibición de la hemoaglutinación (HI) para detectar anticuerpos contra la hemoaglutinina y la Inmunodifusión en agar gel para detectar anticuerpos contra la neuroaminidasa. Otras pruebas serológicas utilizadas en el diagnóstico incluyen, ELISA, anticuerpos fluorescentes, PCR. (3)(7)(11)

Las muestras para el diagnóstico deberán ser preservadas a -20 °C. Se debe tomar en cuenta el diagnóstico deferencial con:

- Newcastle y otras con *paramyxovirus*
- Clamidiosis
- Micoplasmosis y otras bacterianas

3.2.9. Tratamiento

El hidrocloreuro de amantadina ha sido utilizado como tratamiento sintomatológico en algunas especies, aunque se ha observado resistencia por parte de variantes de este virus al tratamiento. Tratamiento usual de aves de corral es eliminación de la población en su totalidad. (3)(5)(11)

3.2.10. Prevención y control

La premisa de control es separación de aves susceptibles de aves enfermas y sus secreciones. Evitar contacto entre aves recuperadas y aves susceptibles. Control en el contacto de aves silvestres, principalmente con anátidos migratorios con poblaciones afectadas y/o susceptibles. (3)(4)

Es una enfermedad de reporte obligatorio, en donde brotes de alta patogenicidad se tratan con cuarentena completa y eliminación de la población aviar completa de las explotaciones comerciales afectadas.

En explotaciones aviares se recomienda la profilaxis con vacuna recombinante, produciendo inmunidad humoral y celular a la vez que permite la diferenciación entre desafío de campo y vacunación. Existen también las vacunas oleosas preparadas a base de líquido alantoideo infeccioso inactivado. (4)(11)(12)

3.2.11 Importancia en salud pública

La variante H5N1 causa una severa infección en humanos, con reportes de alta mortalidad y morbilidad con un aproximado de 72%, aunque la transmisión es únicamente ave-humano, la posibilidad de una transmisión humano-humano aumenta con las múltiples y frecuentes mutaciones que el virus presenta. (5)

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materiales

4.1.1. Recursos Humanos

- Estudiante investigador
- Tres asesores Médicos Veterinarios
- Técnicos de campo del Programa Nacional de Sanidad Avícola.
- Personal del Laboratorio de Ornitopatología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

4.1.2. Recursos de campo

- Hielera
- Hielo
- Jeringas de 3 ml con aguja G x 1
- Tijeras
- Lapiceros
- Pajillas plásticas
- Bolsas plásticas
- Masking tape

4.1.3. Recursos de laboratorio

Inhibición de la hemoaglutinación

- Micro pipeta multicanal
- Micro pipeta unicanal

- Refrigerador 2-8 °C +/- 1
- Puntas de micro pipetas
- Rack para puntas

- Timer
- Cobertores para las placas
- Micro placa de 96 posos fondo en U

- Solución PBS

Inmunodifusión en agar gel

- Placas de petri
- Medio agarosa
- Solución PBS
- Puntas de pipetas
- Micro pipetas mono canal
- Lámpara de lectura

- Perforador
- Recipientes para reactivos
- Congelador -20°C

4.1.4. Recursos biológicos

Inhibición de la hemoaglutinación

- Antígeno de Newcastle titulado 4 dosis hemoaglutinantes (4DHA)
- Glóbulos rojos al 1% para HI, provenientes de aves jóvenes no vacunadas
- Sueros problema de las aves de traspatio

Inmunodifusión en agar gel

- Antígeno de Influenza Aviar
- Suero control positivo
- Sueros problema de las aves de traspatio

4.1.5. Centros de referencia

- Biblioteca General USAC
- Biblioteca Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
- Biblioteca del Laboratorio de Ornitopatología y Avicultura FMVZ – USAC

4.2 Métodos

Para la realización del presente estudio se llevaron a cabo los siguientes procedimientos:

4.2.1. Área de estudio

El estudio se desarrolló en 6 comunidades del área rural del Municipio de San José Pinula, Departamento de Guatemala, comunidades circundantes a las Granjas Avícolas de Reproductoras en el Municipio, en donde fueron tomadas las muestras de sangre de las aves de traspatio.

Luego de la extracción de la muestras de sangre se introdujo en las pajillas, las cuales se colocaron en posición horizontal suavemente para favorecer la coagulación.

Después cuidadosamente se extrajo el suero para colocarlo en una pajilla limpia debidamente identificada para transportarla al laboratorio en refrigeración.

4.2.2. Variables a medir

Presencia o ausencia de anticuerpos de las enfermedades de Influenza Aviar y Newcastle en sueros de aves de traspatio.

4.2.3. Diseño de estudio

El presente estudio es de tipo descriptivo corte transversal.

4.2.4. Recolección de muestras a nivel de campo

Las muestras de sangre fueron tomadas de aves vivas a nivel de la vena braquial del ala. Se expuso la vena por la eliminación de plumas en la superficie ventral de la región humeral del ala. Se obtuvieron de 2 a 3 ml. depositándola cuidadosamente en una pajilla, dejándolas reposar en una en una gradilla para favorecer la formación del coágulo. Después cuidadosamente se obtuvo el suero para colocarlo en una pajilla limpia debidamente identificada, se colocó en refrigeración para su traslado al laboratorio de Ornitopatología de la USAC-FMVZ.

Se recolectaron un total de 180 muestras de suero de las aves de traspatio en las comunidades circundantes a las granjas de reproductoras.

4.2.5. Metodología de laboratorio

4.2.5.1. Inmunodifusión en agar gel, para diagnóstico de Influenza Aviar

Es una prueba de tipo cualitativo para determinar si hay o no contacto con el agente, en aves de corral vacunadas no es determinante para saber si hay o no infección. (12)

En esta prueba el antígeno y el anticuerpo son difundidos.

Los pasos a seguir son los siguientes:

1. Se utiliza una caja petri con agar gel, con fosos cavados en un diagrama de ruleta.
2. Agregar suero control y el suero problema de forma alterna en los fosos exteriores de la caja petri.
3. Incubar a temperatura ambiente por 24 horas mínimo
4. Realizar la lectura.

Se registraron como positivas las muestras que desarrollaron entre el foso central y el foso de la muestra una banda de difusión notoria, que representa la reacción antígeno-anticuerpos en agar, evidenciando la producción de anticuerpos por ave muestreada. Se registraron como negativas las muestras que no forman dicha banda de reacción. (12)

4.2.5.2. Inhibición de la hemoaglutinación (HI) para diagnóstico de Newcastle

Es una prueba de tipo cualitativo para determinar si hay o no reacción del organismo al contacto con el virus de Newcastle, ya que determina únicamente el título de anticuerpos circulantes que presenta la muestra.(12)

Los pasos a seguir son los siguientes:

1. Colocar la micropipeta en posición vertical.
2. Agregar 25 ul de los sueros de PBS con la pipeta multifocal en toda la placa (línea 1 a la 12)
3. Agregar 25 ul de los sueros problema en toda la línea 1 de la columna A, a la H. hacer diluciones dobles seriadas de la línea.
4. Con una pipeta multicanal adicionar 25 ul de antígeno con las 4 dosis hemaglutinantes requeridas en cada pozo de la columna A, hasta la columna H de la fila 1 a la 11. Dejar la placa por un mínimo de 30 min. a temperatura ambiente. (más o menos 20 grados centígrados o 60 minutos a 4 grados centígrados)
5. Adicionar a toda la placa 25 ul de la solución de glóbulos rojos al 1.0%. agitar cubrir en incubar la placa por 40 minutos a temperatura ambiente (más o menos 20 grados centígrados o 60 minutos a 4 grados centígrados)
6. Por último leer la placa

Se registraron como positivos y se estableció como valor definitivo el título de aquellos fosos que presentaron inhibición de la hemoaglutinación total, dado como valor de referencia el título indicado por el primer foso en donde se observó esta reacción.

Se registraron como negativos aquellos que no presentaron esta reacción en ninguno de los fosos o que igualaron a la reacción producida por el foso control.

4.2.6. Análisis de datos

Los resultados obtenidos se presentaron de manera resumida utilizando estadística descriptiva mediante tablas y gráficas por comunidad, las cuales contienen los resultados finales de la investigación.

4.2.7. Localización

El Municipio de San José Pinula se encuentra a una altura de 1,752 metros sobre el nivel del mar, a una distancia de 22 kilómetros de la Ciudad Capital y con una población aproximada de 60,000 habitantes. La Cabecera Municipal la habitan aproximadamente 25,000 personas.

Se constituyó como municipio el 1 de octubre de 1,886 y su nombre significa "Tierra del Pinol".

Sus límites son:

- Al Norte con los Municipios de Palencia y Guatemala, Departamento de Guatemala.
- Al Este con el Municipio de Mataquescuintla, Departamento de Jalapa.

- Al Sur con el Municipio de Santa Rosa de Lima, Departamento de Santa Rosa.
- Al Oeste con los Municipios de Santa Catarina Pinula y Fraijanes, Departamento de Guatemala.

Este municipio, es uno de los 17 con los que cuenta el departamento de Guatemala, considerando uno de los mas grandes territorialmente hablando, pues consta de 220 kilómetros cuadrados. Su clima es templado en casi todo el año, variando únicamente en los meses de noviembre, diciembre y enero que son fríos, febrero y marzo que son calurosos. Las dos épocas del año son: época seca y época de lluvia.

4.2.8. Tamaño de la muestra

El cálculo del tamaño de muestra requirió de los siguientes parámetros:

- Identificación de la población de interés
- Identificación de la unidad de muestreo (aves de traspatio) el ave individual
- Nivel de prevalencia al que fué dirigido el muestreo
- Tamaño de la población de interés
- Nivel de confianza (95%)

Fórmula de cálculo del tamaño de la muestra:

Se presenta un diseño de muestreo en dos etapas, en el que se calcula el tamaño de la muestra utilizando la fórmula de detección de presencia/ausencia de enfermedad o infección según la fórmula estadística Canon y Roe.

Fórmula según Cannon y Roe:

$$n = [1 - (1 - a)^{1/D}] N - (D - 1)/2$$

Donde:

n = tamaño de muestra necesario

a = nivel de confianza (95%= 0.95)

D = No. Total de animales

N= tamaño de la muestra

Con base a la presente fórmula, se obtuvo 30 muestras de sangre por cada comunidad, para la extracción de suero de forma aleatoria en 6 comunidades, haciendo un total de 180 muestras.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el desarrollo del presente estudio se evaluó la presencia de anticuerpos de las enfermedades de Influenza Aviar de baja patogenicidad y Newcastle, se monitorearon 180 aves de traspatio de 6 comunidades circundantes a granjas de reproductoras del municipio de San José Pinula, Guatemala

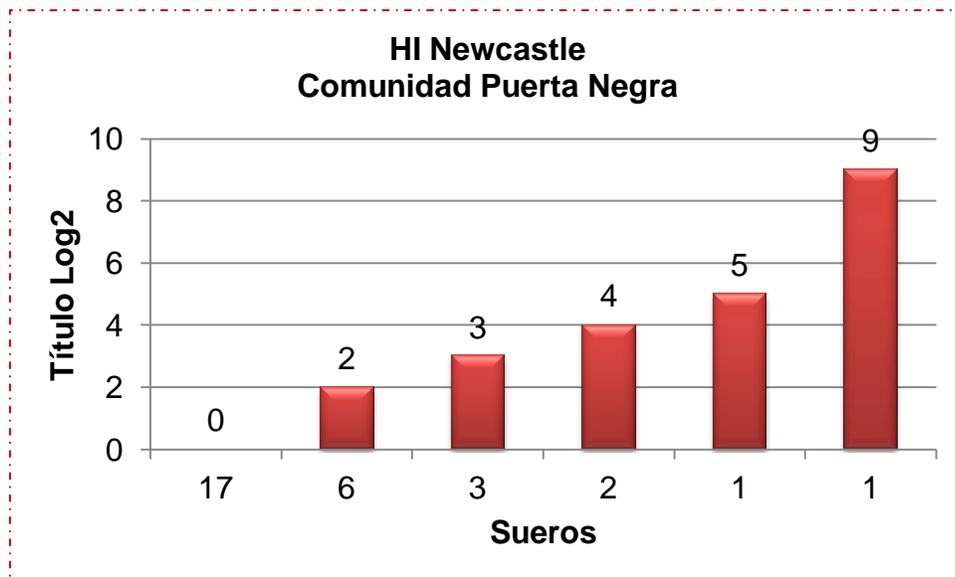
Para la prueba de Inmunodifusión en Agar Gel (ID), los 180 sueros examinados de las 6 comunidades evaluadas, ninguno presentó reacción, por lo tanto la prevalencia es de 0 %, para cada una de las comunidades; lo que indica la ausencia de anticuerpos contra la enfermedad de Influenza aviar de baja patogenicidad. (Ver anexos, tablas No. 1 a la 6)

La ausencia de anticuerpos puede deberse a las condiciones de vida de las aves, que no interactúan con otras aves portadoras del virus, lo cual indica que las aves muestreadas no han estado en contacto con el virus, aún cuando el virus ha sido aislado por medio de aislamiento virológico en nuestro país.

Para la prueba de Inhibición de la hemoaglutinación (HI), de los 180 sueros examinados, describo a continuación los resultados por comunidad:

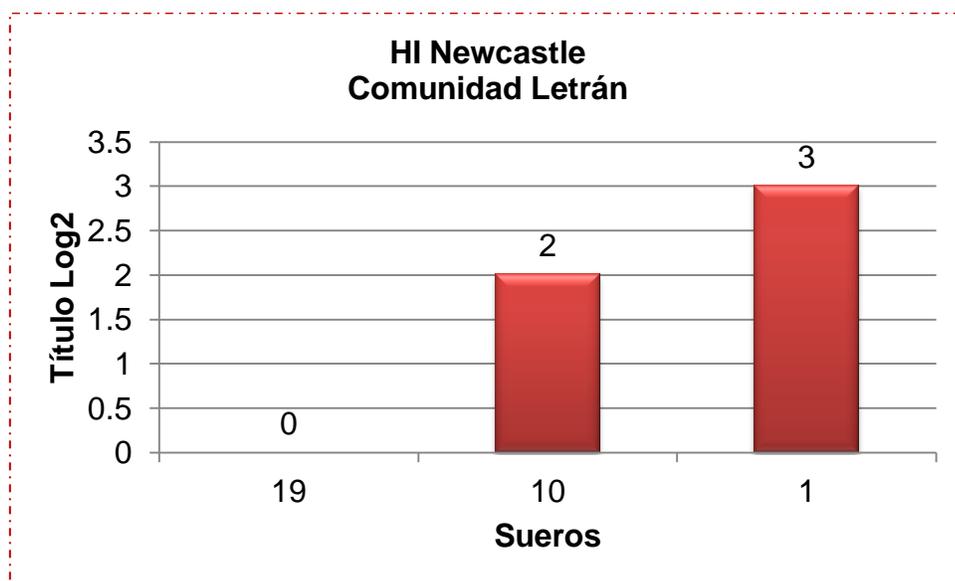
Para la comunidad Puerta Negra, la prevalencia es de 43.3%; trece de treinta sueros evidenciaron presencia de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle, aquí se observaron títulos de anticuerpos entre 0 y 9 con el siguiente orden:

Título de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle comunidad Puerta Negra
San José Pinula, Guatemala.



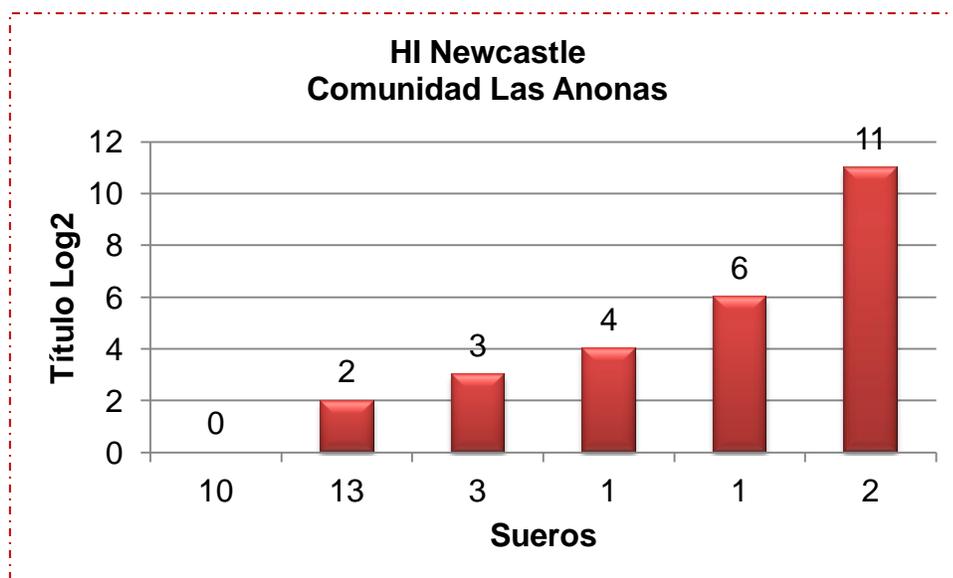
Para la comunidad Letrán, la prevalencia es de 36.6%; once de treinta sueros evidenciaron presencia de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle, aquí se observaron títulos de anticuerpos entre 0 y 3 con el siguiente orden:

Título de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle comunidad Letran San José Pinula, Guatemala.



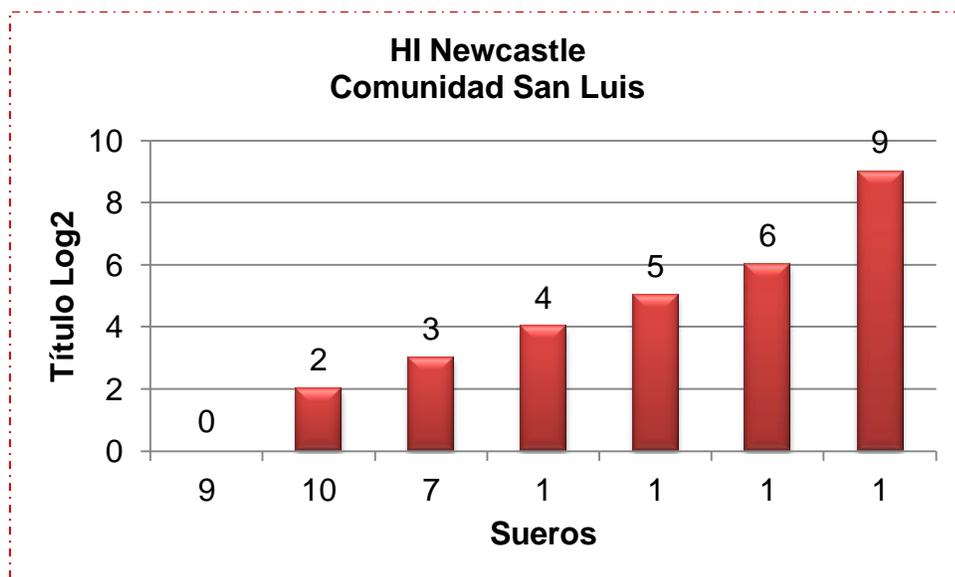
Para la comunidad Las Anonas, la prevalencia es de 63.3%; veinte de treinta sueros evidenciaron presencia de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle, aquí se observaron títulos de anticuerpos entre 0 y 11 con el siguiente orden:

Título de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle comunidad Las Anonas
San José Pinula, Guatemala.



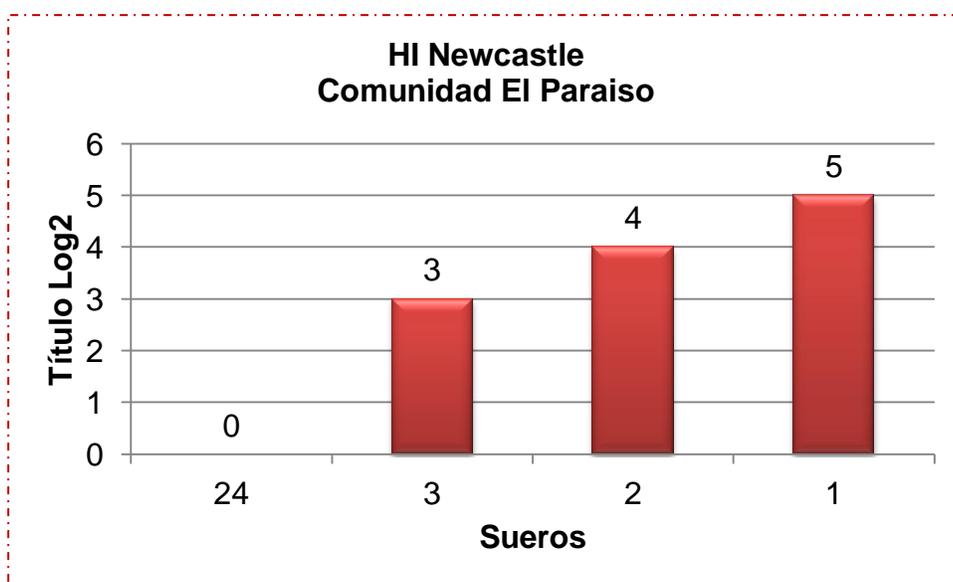
Para la comunidad San Luis, la prevalencia es de 70%; veinte y uno de treinta sueros evidenciaron presencia de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle, aquí se observaron títulos de anticuerpos entre 0 y 9 con el siguiente orden:

Título de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle comunidad San Luis San José Pinula, Guatemala.



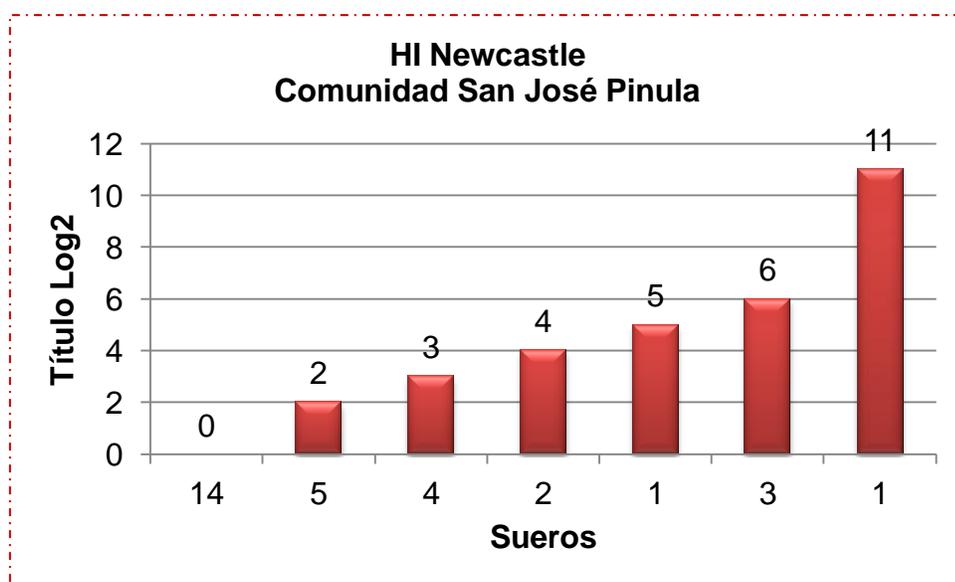
Para la comunidad El Paraiso, la prevalencia es de 20%; seis de treinta sueros evidenciaron presencia de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle, aquí se observaron títulos de anticuerpos entre 0 y 5 con el siguiente orden:

Título de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle comunidad El Paraiso
San José Pinula, Guatemala.



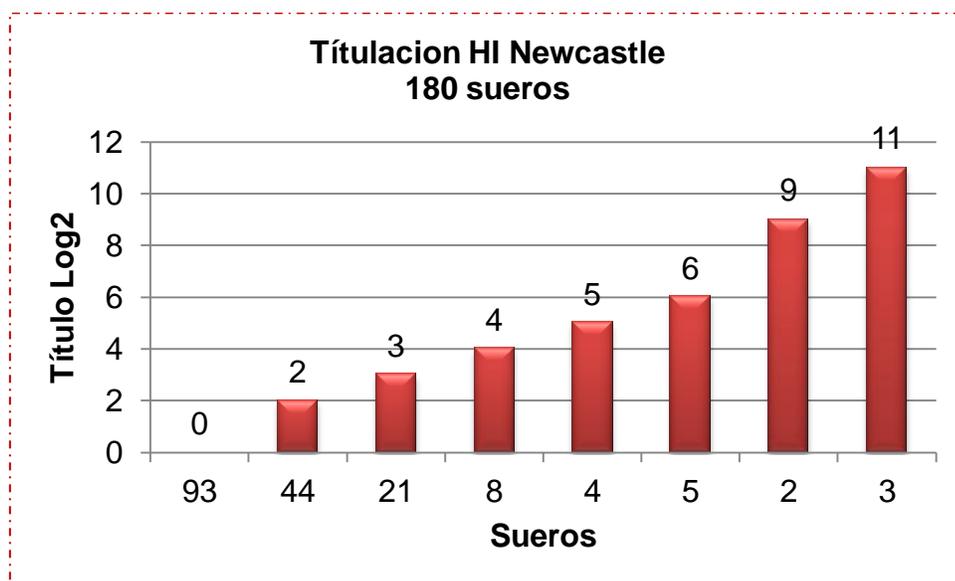
Para la comunidad San José Pinula la prevalencia es de 53.3%; diez y seis de treinta sueros evidenciaron presencia de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle, aquí se observaron títulos de anticuerpos entre 0 y 11 con el siguiente orden:

Título de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle comunidad San José Pinula, Guatemala.



De los 180 sueros evaluados, ochenta y siete de ciento ochenta sueros, presentaron anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Newcastle, la prevalencia es de 48.3% al virus de la enfermedad antes mencionada; de tal forma que en total de los 180 sueros: 93 sueros presentaron título 0 Log₂, siendo el 51.6% de sueros sin presencia de anticuerpos.

Título de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle de los 180 sueros de las 6 comunidades.



En general si se comparan los resultados de presencia de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle entre las 6 comunidades evaluadas, la comunidad con menor presencia de anticuerpos es la comunidad El Paraiso (Ver gráfica 5 y tabla 5), y la comunidad con mayor presencia de anticuerpos es la comunidad San Luis, (Ver gráfica 4 y tabla 4), esto nos indica que a pesar de que los títulos de anticuerpos no son elevados, la comunidad tiene un desafío constante con el virus de Newcastle, con tendencia a incrementarse.

La alta prevalencia de esta enfermedad en las aves de traspatio muestreadas, demuestra que son un reservorio del virus de Newcastle potencialmente peligroso para las granjas, no importando si la presencia de anticuerpos sea mayor o menor en las distintas comunidades y si los títulos son elevados o bajos.

Los factores pueden verse ligados a una alta prevalencia de ENC en la prueba de HI pudiendo ser:

1. Contacto con el virus diseminado por aves silvestres.
2. Larga duración de los anticuerpos, que genera una acumulación de animales positivos, ya que los anticuerpos pueden dejar de ser detectados hasta los ocho a doce meses después de la exposición.
3. Contacto con heces de otras especies o coespecímenes infectados.
4. Exposición de otro individuo llevado de otros lugares, sin considerar la cuarentena de los mismos.

Los resultados sugieren que el virus de ENC es endémico en la población de aves de traspatio; la presencia de anticuerpos no dependió del mes de colecta de las muestras, debido a la recurrencia de la enfermedad latente en las aves de traspatio en Guatemala; es una enfermedad reemergente considerando a las aves de traspatio una población en riesgo potencial para la avicultura.

Sin importar el nivel de patogenicidad y virulencia de la cepa de la enfermedad de Newcastle que esté presente o la resistencia natural que posean las aves de traspatio circundantes a las granjas avícolas de reproductoras, han estado expuestas al virus causante de la enfermedad, generando una respuesta inmune efectiva en la mayoría de los casos, haciendo resistente a algunas aves a la mortalidad observada, así mismo convirtiendo a la población afectada en un posible reservorio y diseminador del virus altamente peligroso para las granjas de reproductoras del municipio de San José Pinula Departamento de Guatemala.

VI. CONCLUSIONES

1. Las aves de traspatio muestreadas en las comunidades circundantes a las granjas avícolas de reproductoras del municipio de San José Pinula presentan una prevalencia del 48.3%, contra el virus de Newcastle, que asociado a la presencia de sintomatología clínica en algunos casos, sugiere que son reservorios del virus altamente peligrosos para las poblaciones de aves de las granjas avícolas de reproductoras del municipio antes mencionado.
2. Las aves de traspatio muestreadas, en las comunidades circundantes a las granjas avícolas de reproductoras, evidenciaron presencia de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle, no sabiendo exactamente el origen del mismo, es de mucha importancia en los estudios epidemiológicos, por su importancia económica y sanitaria para las granjas avícolas, ya que son portadoras y reservorio del virus.
3. No existe ningún tipo de asociación o efecto en la edad, sexo, o especie de las aves muestreadas, con la presencia de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle.
4. Las aves de traspatio muestreadas, en las comunidades circundantes a las granjas avícolas de reproductoras, no presentan anticuerpos circulantes contra la enfermedad de Influenza Aviar de baja patogenicidad; lo que indica que no han estado expuestas al virus antes mencionado.

VII. RECOMENDACIONES

1. Establecer si otras especies aviares, silvestres residentes en el municipio de San José Pinula o aves en cautiverio, presentan anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle.
2. Continuar con los estudios epidemiológicos del área, ya que en este estudio han presentado respuesta inmunológica al virus de Newcastle, siendo esta una enfermedad altamente contagiosa y en la mayoría de los casos mortal, lo cual representa un foco de infección para otras explotaciones avícolas.
3. Capacitar a las personas con las medidas básicas de bioseguridad para evitar que sus animales entren en contacto con el virus de las enfermedades de Influenza Aviar y Newcastle.

VII. RESUMEN

El presente estudio se realizó en aves de traspatio de 6 comunidades circundantes a las granjas avícolas de reproductoras del municipio de San José Pinula del departamento de Guatemala, con el objetivo de determinar la presencia de anticuerpos de las enfermedades de Influenza Aviar de baja patogenicidad y Newcastle.

Para determinar la presencia de anticuerpos se utilizaron dos pruebas de laboratorio; la prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación (HI) se utilizó para detectar la presencia de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle y la prueba de Inmunodifusión en Agar Gel (ID) para detectar presencia de anticuerpos contra la enfermedad de Influenza Aviar.

El rol que las aves de traspatio representan como portadores y reservorios de enfermedades aviares de importancia económica y sanitaria para las granjas avícolas, se considera de mucha importancia en los estudios epidemiológicos. En esta investigación se generó información sobre el papel importante de la población de aves de traspatio en la epizootiología de las enfermedades de Newcastle (ENC; *Paramixoviridae*), y de Influenza Aviar (IA; *Orthomyxoviridae*), determinando la presencia de anticuerpos en las aves de traspatio de las comunidades circundantes a granjas avícolas de reproductoras del Municipio de San José Pinula.

Se colectaron 180 muestras de sueros, y se analizaron con las pruebas antes mencionadas, obteniendo para la enfermedad de Newcastle una prevalencia de anticuerpos de 48.3%, por lo cual queda demostrada la exposición al agente causal de ENC. Para la enfermedad de Influenza Aviar de baja patogenicidad, se obtuvo una prevalencia de 0% de anticuerpos contra la enfermedad de IA baja patogenicidad, se concluyó que las aves muestreadas no han estado en contacto con el virus de la enfermedad de Influenza Aviar de baja patogenicidad.

IX. BIBLIOGRAFÍA

1. American Veterinary Medical Association. 2006. Exotic Newcastle Disease Backgrounder. (en línea) Consultado el 15 de mar. 2011. Disponible en http://www.avma.org/reference/backgrounders/exotic_newcastle_bgnd.pdf
2. Avian Biotech International. 2005. Newcastle Disease Virus (NDV). (en línea) Consultado el 18 de mayo 2011. Disponible en <http://www.avianbiotech.com/Diseases/Newcastle>.
3. Calnek, B. 1995. Enfermedades de las aves. Trad. J Mèrigo. México, DF., El Manual Moderno. 1147p.
4. Carter, GR; Wise, DJ; Flores, EF. 2006. Orthomyxoviridae. (en línea) Consultado 20 de mayo 2011. Disponible en <http://www.ivis.org/advances/Carter/Part2Chap20/chapter.asp?LA=1Avian>
5. College of Veterinary Medicine, University of Georgia. 2005. Highly Pathogenic Avian Influenza Virus H5N1 and Wild Birds. (en línea) Consultado 11 jun. 2011. Disponible en <http://www.scwds.org>
6. Iowa State University College of Veterinary Medicine. 2005. Newcastle Disease. (en línea) Consultado 21 jun. 2011. Disponible en http://www.ivis.org/advances/Disease_Factsheets/newcastle_disease.pdf

7. Kitching, R. 2004. Management of Exotic Disease Outbreaks: Learning by-Example. (en línea) Consultado 12 jul. 2011. Disponible en http://www.ivis.org/proceedings/wbc/wbc2004/WBC2004_Kitchingsimple.pdf

8. McMullin, P. 2005. A Pocket Guide to Poultry Health and Disease (Newcastle Disease (Paramyxovirus 1)) (en línea) Consultado 15 ago. 2011. Disponible en <http://www.thepoultrydite.com/diseaseinfo/111/newcastle-disease-paramyxovirus-1>

9. Newcastle Disease. The Merck Veterinary Manual, 8th ed. Edited by S.E. Aiello and A. Mays. Whitehouse Station, NJ: Merck and Co. 1998, pp. 1941--1942

10. Washington department of fish wildlife. 2007. Fact sheet-Avian influenza. (en línea) Consultado 23 jun. 2011. Disponible en http://www.wdfw.wa.gov/factsheets/avian_flu.htm

11. World Organization for Animal Health. 2001. Newcastle Disease. (en línea) Consultado 18 mayo 2011. Disponible en http://www.oie.int/eng/maladies/fiches/a_A060.htm

12. _____. 2005. Manual of Diagnostic test and Vaccines for Terrestrial Animal-Avian Influenza. (en línea) Consultado 8 mar. 2011. Disponible en http://www.oie.int/fr/normes/mmanual/A_00037.htm