

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

**DETERMINACION DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS
DE INFLUENZA AVIAR DE BAJA PATOGENICIDAD
(H5N2) EN ANATIDOS DE EXPLOTACIONES DE
TRASPATIO ALREDEDOR DE UNA GRANJA
SEROPOSITIVA EN EL MUNICIPIO DE SAN RAYMUNDO
DEPARTAMENTO DE GUATEMALA**

SILVIA LISBETH GUIROLA PATZAN

GUATEMALA, OCTUBRE DE 2008

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

**DETERMINACION DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS DE
INFLUENZA AVIAR DE BAJA PATOGENICIDAD (H5N2) EN
ANATIDOS DE EXPLOTACIONES DE TRASPATIO ALREDEDOR
DE UNA GRANJA SEROPOSITIVA EN EL MUNICIPIO DE SAN
RAYMUNDO DEPARTAMENTO DE GUATEMALA**

TESIS
PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN
CARLOS DE GUATEMALA

POR
SILVIA LISBETH GUIROLA PATZÁN

AL CONFERIRSELE EL GRADO ACADÉMICO DE

MÉDICA VETERINARIA

GUATEMALA, OCTUBRE DE 2008

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

JUNTA DIRECTIVA

- DECANO:** Lic. Zoot. Marco Vinicio de la Rosa Montepeque.
- SECRETARIO:** Med. Vet. Marco Vinicio García Urbina.
- VOCAL I:** Med. Vet. Yeri Edgardo Véliz Porras.
- VOCAL II:** Mag. SC. M.V. Fredy Rolando González Guerrero.
- VOCAL III:** Med. Vet. Mario Antonio Motta González.
- VOCAL IV:** Br. David Granados Dieseldorff.
- VOCAL V:** Br. Luis Guillermo Guerra Bone.

ASESORES

Med. Vet. Lucrecia Emperatriz Motta Rodríguez

Med. Vet. Jaime Rolando Méndez Sosa

Med. Vet. Mario Ricardo Benavides Sosa

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

**EN CUMPLIMIENTO A LO ESTABLECIDO POR LOS PRECEPTOS QUE
ESTABLECE LA LEY DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE
GUATEMALA,
PRESENTO A CONSIDERACIÓN DE USTEDES EL TRABAJO DE TESIS
TITULADO:**

**DETERMINACION DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS DE INFLUENZA
AVIAR DE BAJA PATOGENICIDAD (H5N2) EN ANATIDOS DE
EXPLOTACIONES DE TRASPATIO ALREDEDOR DE UNA GRANJA
SEROPOSITIVA EN EL MUNICIPIO DE SAN RAYMUNDO DEPARTAMENTO
DE GUATEMALA.**

**EL CUAL FUERA APROBADO POR LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, PREVIO A
OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE**

MÉDICA VETERINARIA

ACTO QUE DEDICO

A DIOS Por permanecer junto a mí en todos los momentos de mi vida dándome la bendición de permitirme conseguir mis metas.

A MIS PADRES Por ser un apoyo incondicional en todo momento, por reforzar la confianza en mi misma y creer en mis capacidades desde siempre.

A MIS HERMANOS Por estar junto a mí durante estos años de estudio y brindarme su cariño.

A MIS AMIGOS A los que conozco desde que inicie mis estudios y han seguido a mi lado y a los que he conocido a lo largo de la carrera, de todos he obtenido enseñanzas para la vida y he aprendido del valor de la amistad gracias a ellos.

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores, padrinos, al personal del Programa Nacional de Sanidad Avícola PROSA, catedráticos y a todo aquel que me ha brindado ayuda para el cumplimiento de esta meta de forma desinteresada.

A todos muchas gracias.

ÍNDICE

| | |
|--|-----------|
| I. INTRODUCCIÓN | 01 |
| II. HIPÓTESIS | 02 |
| III. OBJETIVOS | 03 |
| 3.1 General | 03 |
| 3.2 Específicos | 03 |
| IV. REVISIÓN DE LITERATURA | 04 |
| 4.1 INFLUENZA AVIAR | 04 |
| 4.1.1 Definición | 04 |
| 4.1.2 Historia | 04 |
| 4.1.3 Etiología | 06 |
| 4.1.3.1 Nomenclatura | 08 |
| 4.1.3.2 Propiedades biológicas | 08 |
| 4.1.4 Inactivación del virus | 09 |
| 4.1.5 Transmisión | 10 |
| 4.1.6 Periodo de incubación | 11 |
| 4.1.7 Signos clínicos | 11 |
| 4.1.7.1 Lesiones macroscópicas | 12 |
| 4.1.7.2 Histopatología | 13 |
| 4.1.8 Epidemiología | 13 |
| 4.1.8.1 Rutas migratorias | 14 |
| 4.1.8.2 Ciclo del virus de Influenza aviar en anátidos | 15 |
| 4.1.8.3 Monitoreo serológico y virológico de patos | 16 |
| 4.1.8.4 Inoculación de patos y otras aves con virus H5N2 de pollos | 17 |
| 4.1.9 Diagnóstico | 18 |
| 4.1.9.1 Aislamiento | 18 |
| 4.1.9.2 Serología | 19 |
| 4.1.9.2.1 Inmunodifusión en agar gel | 19 |
| 4.1.9.2.2 Inmunoensayo con enzimas asociadas | 22 |
| 4.1.9.2.3 Inhibición de la hemoaglutinación | 22 |
| 4.1.9.2.4 Kit de campo | 24 |
| 4.1.9.3 Diagnóstico diferencial | 25 |
| 4.1.10 Tratamiento | 25 |
| 4.1.11 Prevención y control | 25 |
| 4.1.12 Vacunación | 27 |
| 4.1.12.1 Vacunas de emulsión oleosa | 27 |
| 4.1.12.2 Vacunas recombinantes | 28 |

| | |
|---|-----------|
| V. MATERIALES Y MÉTODOS | 29 |
| 5.1 MATERIALES | 29 |
| 5.1.1 Recursos humanos | 29 |
| 5.1.2 De laboratorio | 29 |
| 5.1.3 De campo | 30 |
| 5.1.4 De tipo biológico | 30 |
| 5.1.5 Centros de referencia | 30 |
| 5.2 METODOLOGÍA | 31 |
| 5.2.1 Localización y descripción del área | 31 |
| 5.2.2 Diseño del estudio | 32 |
| 5.2.3 Metodología de campo | 32 |
| 5.2.4 Metodología de laboratorio | 33 |
| 5.2.4.1 Prueba de hemoaglutinación | 33 |
| 5.2.4.2 Prueba de inhibición de la hemoaglutinación | 33 |
| 5.2.5 Análisis estadístico | 34 |
| VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 35 |
| VII. CONCLUSIONES | 36 |
| VIII. RECOMENDACIONES | 37 |
| IX. RESUMEN | 38 |
| X. BIBLIOGRAFÍA | 39 |
| XI. ANEXOS | 42 |
| XII. APÉNDICE | 47 |

I. INTRODUCCIÓN

La Influenza Aviar es una enfermedad viral que afecta el sistema respiratorio, entérico y nervioso de numerosas especies de aves domésticas y silvestres.

En Guatemala fue diagnosticada por primera vez en marzo del año 2,000 en una granja en el municipio de San Raymundo, Departamento de Guatemala por el laboratorio de ornitopatología y avicultura de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Esta cepa ha sido clasificada como H5N2 de baja patogenicidad.

Actualmente la incidencia de la enfermedad a nivel nacional se ha reducido hasta un 0.9% concentrándose en el área central del país la cual es comprendida por los Departamentos de Guatemala, Sacatepequez y Chimaltenango.

Dada la importancia de la avicultura para el país, se han intensificado los programas de prevención de esta enfermedad procurando tomar en cuenta a las explotaciones de traspatio, las cuales pueden ser focos de infección debido a que en estos casos pueden convivir varias especies aviares en un mismo lugar.

Esto significa un riesgo sanitario, ya que según estudios en el extranjero indican que los anátidos pueden ser portadores silentes de la enfermedad, por lo cual es necesario evaluar el diagnóstico en estas especies también.

En esta investigación se pretendió determinar la presencia de anticuerpos para influenza aviar de baja patogenicidad H5N2 en anátidos de explotaciones de traspatio cercanas a una granja con serología positiva por medio de la prueba de inhibición de la hemoaglutinación.

II. HIPÓTESIS

“No existe presencia de anticuerpos para el virus de influenza aviar de baja patogenicidad H5N2 en anátidos de explotaciones de traspatio en el municipio de San Raymundo, departamento de Guatemala mediante la prueba serológica de inhibición de la hemoaglutinación”.

III. OBJETIVOS

3.1 GENERAL

- Contribuir al estudio de la influenza aviar en anátidos en Guatemala.

3.2 ESPECÍFICOS

- Determinar la presencia de anticuerpos de influenza aviar de baja patogenicidad (H5N2) en anátidos de traspatio mediante prueba serológica de inhibición de la hemoaglutinación.
- Determinar el porcentaje de anátidos serológicamente positivos a influenza aviar.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 INFLUENZA AVIAR

4.1.1 DEFINICIÓN

La influenza es una enfermedad infectocontagiosa, ocasionada por cualquier virus de influenza tipo A, miembro de la familia Orthomixoviridae. Los virus de Influenza tipo A son causantes de problemas patológicos de orden mayor en aves, así como en seres humanos y mamíferos (4, 5,22).

Es básicamente una enfermedad viral que afecta el aparato respiratorio, el sistema entérico o nervioso de numerosas especies de aves domésticas (4).

La influenza aviar puede afectar a pollos, pavos, patos, gansos, faisanes, codornices, palomas y gallinas de Guinea, así como una amplia variedad de aves silvestres (5).

Las aves acuáticas migratorias han comprobado ser la reserva natural de esta enfermedad. Se conocen dos formas de virus de la influenza aviar, una de baja patogenicidad y otra altamente patógena (23).

4.1.2 HISTORIA

La influenza aviar fue descrita desde 1878 por Perroncito, investigador italiano quien la diferenció de aquellas enfermedades causadas por bacterias. Originalmente fue llamada Peste de las Aves porque se diseminaba rápidamente ocasionando altos porcentajes de mortalidad en pollos (22, 23).

En 1901, se determinó la etiología, pero no fue hasta 1955 que Shafer en Alemania determinó que el virus era tipo A, relacionado a otros virus de influenza que afectaban a caballos, cerdos y humanos (22,23).

En 1981, se abandonó el término plaga aviar y se tomó el de influenza aviar altamente patógena (22,23).

Durante 1997 se presentaron tres brotes en el mundo, específicamente en Italia, Australia y Hong Kong (22,23).

De diciembre del 2000 a abril del 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 (22,23).

El 23 de marzo del 2000 se detectó la presencia de anticuerpos séricos por infección de campo ante un virus H5N2 en aves del municipio de San Raymundo en el departamento de Guatemala. Este virus fue tipificado como de baja patogenicidad (22,23).

En mayo del 2000 en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, 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 Laboratories NVSL), en Ames, Iowa, USA. En la evaluación que se realizó en el 2000, 13.8% de las granjas eran positivas (19,20, 23).

La entidad encargada de llevar a cabo la vigilancia epidemiológica de esta enfermedad es el Programa Nacional de Sanidad Avícola PROSA. Este fue formado a partir del año 2000 como un programa para la prevención y control de la influenza aviar. Así mismo se forma en 1999 la Comisión Técnica Avícola en la

cual se involucran los sectores oficial, productivo, académico y el Colegio de Médicos Veterinarios y Zootecnistas y que trabaja en conjunto con el PROSA (21).

A partir del año 2000 en que se aísla el virus de influenza aviar, se han mantenido monitoreos constantes ya sea en aves de explotaciones intensivas, traspatios o aves silvestres. De esta forma se logra establecer la prevalencia de la enfermedad en el país, que ha variado de un 13.8% en el año 2000 a un 0.9 % en el año 2007 (apéndice) (21).

4.1.3 ETIOLOGÍA

Corresponde a un virus ARN de la familia Orthomixoviridae. Se caracteriza al virus por ser pleomorfo de tamaño pequeño, con simetría icosaédrica y proyecciones de glucoproteína de la envoltura que tienen actividad hemaglutinante y de neuraminidasa (5).

El ARN está contenido en 8 segmentos individuales, los cuales codifican la síntesis de 10 proteínas diferentes.

Las proteínas estructurales consisten en proteínas de nucleocápside (NP), proteína de matriz (M) (5,23).

Al igual que otros virus, los virus de la influenza necesitan infectar células animales para replicarse y causar la enfermedad.

Existen tres tipos de influenza: A, B y C. Todos los virus de influenza que afectan animales domésticos pertenecen al tipo A (5,11).

Los virus tienen un antígeno común, tipo "A". Este antígeno es utilizado en una prueba de difusión en agar gel para identificar virus tipo "A", o para detectar anticuerpos para el antígeno tipo "A" (5,11).

Los tipos B y C se encuentran típicamente sólo en humanos. Los virus de influenza tipo A se hallan en cerdos, caballos, ocasionalmente en otros mamíferos, muchas especies aviares y humanos (5,11).

Posee 2 antígenos de superficie que se clasifican en hemaglutinina (H) y neuraminidasa (N). Existen 16 subtipos H y 9 subtipos N (5,11).

La hemaglutinina permite la adherencia del virus a los eritrocitos y determina la selectividad del huésped que infecta, así como la patogenicidad del virus (12).

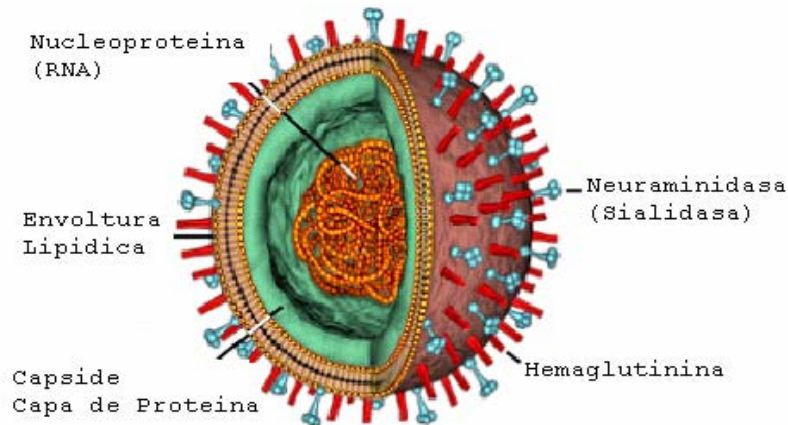
La neuraminidasa actúa como una enzima que rompe el ácido neuramínico permitiendo al virus separarse para infectar otras células (12).

Los virus de influenza de baja patogenicidad pueden ser causados por cualquiera de los 16 subtipos de hemaglutinina. Los más significativos son los H5 y H7 debido a que ambos subtipos pueden mutar y convertirse de alta patogenicidad (20).

Los anseriformes (patos, gansos y cisnes) consisten en más de 250 especies y habitan en todos los confines de la tierra exceptuando los grandes desiertos (10).

En estas aves se han detectado todas las hemaglutininas de los virus de IA excepto la H13. Los serotipos más frecuentemente encontrados son H3, H4, H6 y N2, N6 y N8. Los serotipos y la incidencia de los virus de influenza en los patos varían grandemente de acuerdo a las áreas geográficas de donde son originarios, así como el tiempo transcurrido entre un muestreo y otro (10).

Virus Influenza Aviar



4.1.3.1 NOMENCLATURA

El nombre con que se clasifica a un virus de influenza aviar incluye tipo (A,B,C), el huésped de origen (con excepción del humano), el origen geográfico, el número de cepa (si existe) y el año de aislamiento seguido por la descripción antigénica de hemaglutinina (H) y neuraminidasa (N), por lo que el virus aislado en Guatemala en el 2000 tiene la siguiente nomenclatura:

A/CK/Guate/01/00/H5N2 (11,16).

4.1.3.2 PROPIEDADES BIOLÓGICAS

La propiedad biológica de patogenicidad de los virus de influenza aviar es en extremo variable y no se puede predecir en base al huésped de origen o subtipo antigénico del virus. Los virus aviares de los subtipos H5 y H7 se han vinculado con enfermedad grave en pollos, pavos, patos y golondrinas de mar. Sin embargo, hay múltiples ejemplos de aislamiento de virus H5 y H7 que no son

patógenos, por lo cual, la configuración antigénica por sí sola no determina la patogenicidad (5).

Uno de los factores fundamentales que determinan la virulencia de los virus de influenza aviar es la secuencia de aminoácidos en el punto de fusión de los dos brazos de la hemaglutinina. La presencia de aminoácidos básicos en este sitio hace al virus susceptible a proteasas celulares y bacterianas presentes en células respiratorias y digestivas como sucede con virus carentes de esta secuencia de aminoácidos básicos y que sólo son sensibles a enzimas similares a la tripsina presentes sólo en células respiratorias y digestivas (10).

Una consecuencia del genoma viral segmentado es que cuando una célula es infectada por 2 virus de influenza diferentes, en su replicación pueden darse 256 posibles combinaciones de nuevos virus (10).

Estudios llevados a cabo en virus H5N2 tanto de baja patogenicidad como de alta patogenicidad de pollos en Pennsylvania, han sugerido que todos los virus de este grupo tienen secuencia de sitio de ruptura relacionado con los de alta patogenicidad; no obstante, la hemaglutinina de los aislamientos iniciales menos patógenos tenían un sitio de glucosilación en la región de ruptura, y es posible que la presencia de esto haya bloqueado una ruptura eficiente. Una mutación simple que eliminó ese sitio de glucosilación dio como resultado una cepa de alta patogenicidad. Así en este caso, la determinación de la secuencia alrededor del sitio de ruptura de las hemoaglutinina indicaría la naturaleza peligrosa de esos virus particulares (5).

4.1.4 INACTIVACIÓN DEL VIRUS

Para su inactivación pueden aplicarse temperaturas de 56°C por 3 horas ó 60°C por 30 min. Es vulnerable a pH ácido, agentes oxidantes (dodecil sulfato de sodio), disolventes de lípidos (β -propiolactona) y se inactiva por la acción de la formalina y compuestos de yodo. En cuanto a su supervivencia permanece por largo tiempo en los tejidos, heces y agua (12).

4.1.5 TRANSMISIÓN

La principal fuente de transmisión es el animal infectado que elimina el virus por las heces (1 gramo de estiércol contaminado puede contener suficiente virus como para infectar un millón de aves), pero también con 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 como personas, aves silvestres, moscas, vehículos y por fómites como jaulas, separadores de huevo etc. La transmisión vertical no tiene mucha importancia (5, 11,3).

Los virus de influenza aviar se replican principalmente en células epiteliales del tracto respiratorio superior e intestinos, y es diseminado a través de secreciones respiratorias y fecales (5,11).

Se han clasificado las fuentes de introducción primaria de infección para aves domésticas de la siguiente manera:

1. Otras especies de aves domésticas
2. Aves exóticas acuáticas
3. Aves silvestres
4. Otros animales

En la clasificación número 1 hay ejemplos de propagación de una especie doméstica a otra, por ejemplo, de patos a pollos. En la clasificación 2 el potencial parece ser real. La clasificación 3 es una fuente de infección considerada comúnmente en aves domésticas, en particular aves acuáticas migratorias (1, 14).

En la clasificación 4, hay evidencia de que los pavos se pueden infectar con virus de cerdos (1,14).

Un estudio de laboratorio en patos domésticos, infectados con virus H5N1 aislados en 2004, demuestra que, al comparar los datos actuales con los de las infecciones causadas por virus desde, 2003, resulta que los patos domésticos eliminan una mayor cantidad de virus durante períodos de tiempo más largos y, al igual que antes, no muestran ningún síntoma de enfermedad (16).

El estudio puso en relieve que las cantidades de virus que excretaron los patos con aspecto sano podría aproximarse a las excretadas de los pollos visiblemente enfermos. La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) informa que es preocupante para la salud pública que los patos puedan infectarse y difundir virus por períodos largos, incluso sin mostrar señales alarmantes, en forma de signos visibles ni síntomas (16).

4.1.6 PERÍODO DE INCUBACIÓN

Los períodos de incubación para las distintas presentaciones de la enfermedad ocasionadas por estos virus, varían de tan breves como de unas cuantas horas hasta tres días. El período de incubación depende de la dosis del virus, la vía de exposición y las especies expuestas (5).

4.1.7 SIGNOS CLÍNICOS

Los signos de influenza varían grandemente y dependen de muchos factores, incluyendo edad y especies afectadas, virulencia del virus, infecciones concurrentes y manejo. Los virus de baja patogenicidad pueden no presentar signos, aunque puede ocasionar disminuciones en la producción de huevo o cese de la postura, síntomas respiratorios, anorexia, depresión, sinusitis y mortalidad lenta pero elevada. Si existen otros patógenos la afección puede exacerbarse. Lo cual elevaría la gravedad de los signos clínicos y la mortalidad alcanzaría hasta 60 ó 70%. Mientras que las cepas de alta patogenicidad pueden ocasionar infecciones fatales, precedidas por pocos signos (4, 7, 9, 22, 23).

Las aves infectadas con influenza aviar de alta patogenicidad pueden mostrar uno o más de los siguientes síntomas:

- Flujo nasal de sangre
- Falta de energía y apetito
- Falta de coordinación
- Hinchazón de cabeza, párpados, cresta, buche y tarsos
- Diarrea
- Puntos hemorrágicos
- Buche y crestas cianóticas
- Baja en la producción de huevo
- Huevos fárfaros (11,23).

La enfermedad clínica y la muerte producidos por virus de influenza aviar de alta patogenicidad son causa de falla multisistémica de órganos viscerales o el compromiso de unos pocos tejidos críticos en los sistemas nervioso, cardiovascular o endocrino. Los pollos y pavos son a menudo encontrados muertos con escasos signos clínicos distintos a depresión y en decúbito. Ocasionalmente se encuentra tortícolis, paresia y parálisis en unas pocas aves que sobreviven después del quinto día de la infección (20).

En otras especies como patos, generalmente no se manifiestan signos clínicos, aún frente a los virus que son altamente patógenos para pollos, por lo que se comportan como portadores (2,23).

4.1.7.1 LESIONES MACROSCÓPICAS

Cuando la afección se presenta en su forma altamente patógena, las lesiones macroscópicas son:

- Deshidratación.
- Severa congestión de la musculatura.

- Hinchazón de cabeza y cresta.
- Hemorragias en tarsos y patas.
- Necrosis de cresta y barbillas.
- Petequias en órganos viscerales (5).

Cuando la enfermedad es producida por cepas de baja patogenicidad se puede observar:

- Inflamación catarral, fibrinosa, serofibrinosa, mucopurulenta o caseosa a nivel de senos.
- Engrosamiento y exudado fibrinoso o caseoso en sacos aéreos.
- Peritonitis catarral fibrinosa y peritonitis por ruptura de yema.
- Exudado en oviductos de aves ponedoras (5,22).

En pavos se presenta especialmente enteritis catarral fibrinosa a nivel de ciego, intestino o ambos sitios (7).

4.1.7.2 HISTOPATOLOGÍA

Las lesiones que se pueden presentar a nivel celular son:

- Hígado y riñones: Degeneración parenquimatosa
- Miocardio, bazo, hígado, pulmón y encéfalo: Edema, hiperemia, hemorragias, manguitos perivasculares (5).

4.1.8 EPIDEMIOLOGÍA

Los virus de la influenza se encuentran en muchas especies de aves silvestres sin provocar en ellos enfermedades, constituyéndose en reservorios virales asintomáticos.

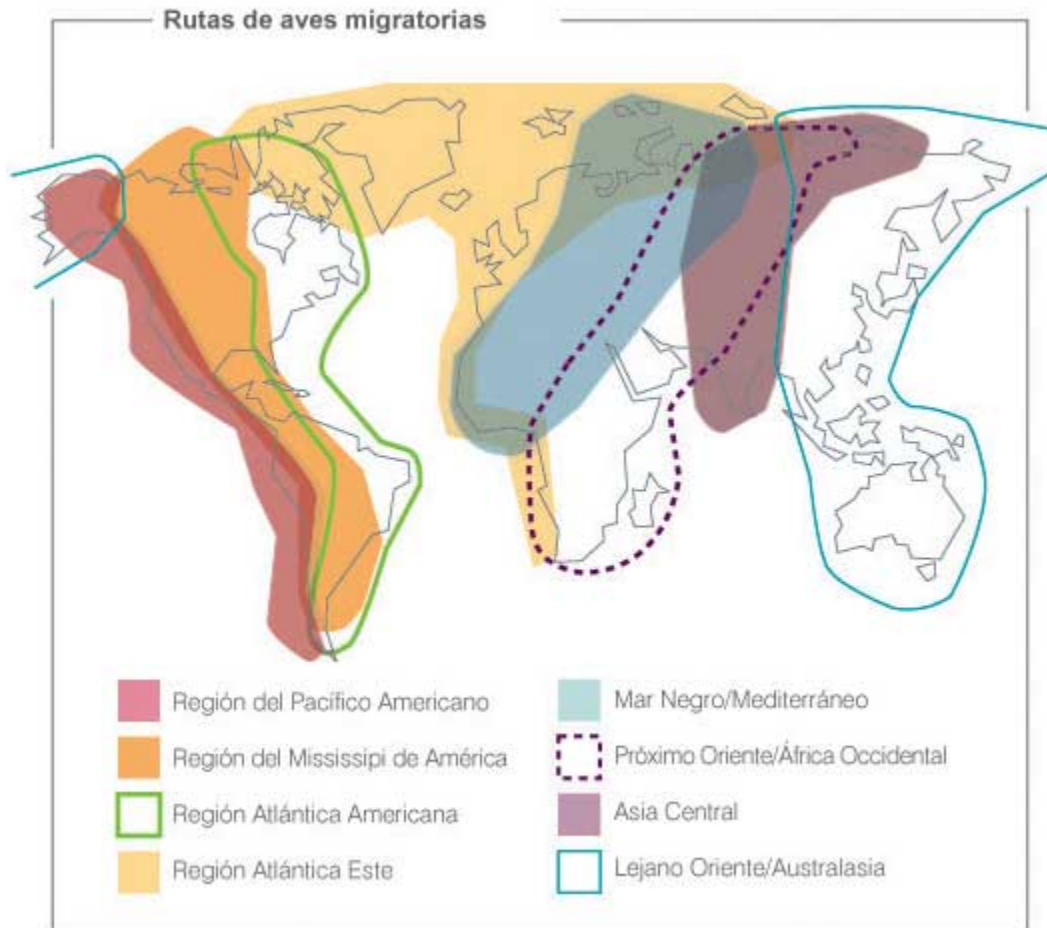
Al orden anseriforme, pertenecen más de 250 especies de patos, gansos y cisnes, estas aves habitan en todos los confines de la tierra exceptuando los grandes desiertos (10)

En estas aves se han detectado todas las hemaglutininas de los virus de influenza aviar excepto por la H13. Los serotipos y la incidencia de los virus de influenza en los patos varían grandemente de acuerdo a las áreas geográficas de donde son originarios, así como del tiempo transcurrido entre un muestreo y otro (10).

Existen sospechas más no evidencias claras de que las aves acuáticas infecten aves domésticas, especialmente pavos (10).

4.1.8.1 RUTAS MIGRATORIAS

Los desplazamientos migratorios varían considerablemente según las especies, regiones geográficas entre otros factores. Las distancias que recorren son muy variables, desde las megamigraciones de aves que vuelan del Polo Norte al Polo sur, vuelos intercontinentales de Europa a África, vuelos interoceánicos de la India a Australia, otras aves que recorren distancias más limitadas en el mismo hemisferio y en el extremo algunas aves tropicales que simplemente tienen migraciones altitudinales de las montañas a las planicies (10).



(9)

4.1.8.2 CICLO DEL VIRUS DE INFLUENZA EN ANÁTIDOS

Los patos y gansos de Norteamérica en otoño emigran de norte a sur rumbo a sus áreas de invernación y a fines de la primavera retornan al norte a sus lugares de reproducción: los mantos acuáticos de las zonas lacustres y marismas del norte de Canadá donde se reproducen durante el verano ártico (10,24).

Los anátidos se concentran por millares en éstas lagunas y es aquí donde los virus de influenza se perpetúan: Los virus de influenza forman parte de la flora normal de patos y gansos, se replican en el tubo digestivo de éstas aves y son excretados por las heces en las aguas donde cada año se congregan, tanto las aves adultas como las crías que nacieron en el verano. Las bajas temperaturas

de la tundra conservan indefinidamente los virus de influenza y de ésta manera las crías que nacen sin anticuerpos adquieren el virus perpetuándose el ciclo (10,24)

Investigaciones realizadas en distintas áreas de reproducción de anátidos tanto en Canadá como en Europa han demostrado que hasta un 60% de los patos juveniles albergan algún virus de influenza mientras que menos del 2% de los adultos son portadores de algún virus (10).

Es importante resaltar que en las aves marinas y de litoral el porcentaje de aves encontradas con algún virus de influenza es mucho menor que el de los patos, en ellos se ha encontrado un porcentaje que puede variar de 8 a 14 % en algunas especies mientras que en otras difícilmente llega al 1 % (10).

4.1.8.3 MONITOREO SEROLÓGICO Y VIROLÓGICO DE PATOS

Se hizo una investigación con 1,000 patos de 15 especies diferentes de 4 áreas de internación en México, Sinaloa, Tamaulipas, Yucatán y el Estado de México. Se les extrajo sangre para realizar prueba de inhibición de la hemoaglutinación contra virus de H5N2 de los pollos. Y se tomaron hisopados cloacales para aislamiento viral de H5N2 (10).

Los resultados fueron:

- De ninguno de los sueros examinados fue posible encontrar anticuerpos de inhibición de la hemoaglutinación contra virus H5N2.
- La inoculación de embriones con extractos de los hisopos cloacales de los patos no permitió el aislamiento de ningún virus de influenza (10).

4.1.8.4 INOCULACIÓN DE PATOS Y OTRAS AVES CON VIRUS H5N2 DE POLLOS

En otro estudio se inocularon por vía endovenosa patos de 5 semanas de edad previamente corroborado que estaban libres de anticuerpos contra el virus de influenza aviar H5N2 con 0.5 cc del mismo virus conteniendo $10^{8.5}$ DL – embrión de pollo (10).

Así mismo para determinar la capacidad del virus H5N2 de infectar otras aves domésticas y que estas pudieran ser vectores de difusión, se inocularon pavos domésticos, faisán de collar y palomas domésticas (10).

Se dejaron pollos centinelas, a los que no se les realizó ningún inóculo y se ubicaron en jaulas debajo de aquellas donde se ubicaron los patos inoculados (10)

Todas las aves inoculadas fueron sometidas a monitoreo virológico por medio de hisopos cloacales y traqueales a los 7, 14 y 21 días post inoculación y muestreos serológicos para pruebas de inhibición de la hemoaglutinación (10).

Se utilizaron 20 pollos de 5 semanas de edad libres de anticuerpos como testigos, estos fueron inoculados con una gota intranasal del mismo virus utilizado para inocular a los patos (10).

Los resultados fueron:

- No fue posible el aislamiento del virus a los 7, 14 y 21 días post inoculación de patos, pavos domésticos, faisanes, palomas y pollos centinelas (10).
- Pollos testigos: En 20/20 de los pollos inoculados a los 7 y 14 días se pudo aislar el virus H5N2 y solo en 2/20 a los 21 días (10).

- Con respecto al monitoreo serológico, Todas las aves inoculadas y los pollos centinelas permanecieron seronegativos a los 7, 14 y 21 días post inoculación (10).
- En los pollos inoculados: a los 7 días tuvieron títulos de HI en promedio de 70, a los 14 días 139, a los 21 días 234. el título más bajo fue un pollo de 1 en 10 y el más alto fue 2560 (10).

Los resultados del muestreo virológico y serológico de anátidos en cuatro áreas de invernación en México así como la refractoriedad al virus de los pollos mostrada por los patos y otras aves al momento de su inoculación directa da señales de que no son estas aves los vectores de la influenza aviar para la avicultura en México según su autor.

4.1.9 DIAGNÓSTICO

El diagnóstico definitivo de virus tipo A de influenza depende del aislamiento e identificación del virus. Como los síntomas clínicos pueden variar de manera dramática, el diagnóstico clínico se considera presuntivo (9, 19).

4.1.9.1 AISLAMIENTO

El virus se aísla de tráquea o la cloaca de aves vivas o muertas. Pueden emplearse hisopos de algodón seco. Los hisopos deben colocarse en un medio de transporte estéril (1 a 2 ml.) que contenga concentraciones elevadas de antibióticos (5,19).

Es muy importante conservar muestras de virus aislados en frío (4°C) y húmedas antes de su procesamiento (19).

Los embriones de pollo de 9 a 11 días de edad se inoculan vía cavidad alantoidea con alrededor de 0.1 ml de muestra (5).

Si hay virus presente en las muestras, habrá una proliferación suficiente durante el primer pase para producir hemoaglutinación (5).

4.1.9.2 SEROLOGÍA

Se utilizan pruebas serológicas para demostrar la presencia de anticuerpos que pueden ser detectados a partir de los 7 a 10 días post-infección o por vacunación previa. Es importante obtener suero si es posible de la fase aguda o convaleciente de la parvada, el cual puede conservarse congelado hasta el momento de realizar las pruebas (5, 16).

La vigilancia de rutina en aves individuales o parvadas para determinar evidencia serológica de infecciones producidas por virus de influenza es importante para la detección temprana y la vigilancia regulatoria. En su mayoría, tres pruebas son usadas.

1. Inmunodifusión en Agar Gel AGID
2. Inmunoensayo con Enzimas Asociadas ELISA.
3. Inhibición de la Hemoaglutinación HI.

Las pruebas de AGID y ELISA son pruebas de tipificación mientras que la HI es una prueba de subtipificación (17).

4.1.9.2.1 INMUNODIFUSIÓN EN AGAR GEL

La AGID es una prueba de tipificación, que puede ser usada en todas las aves para infecciones de cualquier tipo A de virus de influenza. Es una prueba de orden cualitativo capaz de detectar todas la hemaglutininas de la influenza tipo A.

Su fundamento consiste en la migración concurrente de antígeno y anticuerpo a través del agar gel. Cuando entran en contacto, se combinan para formar un precipitado que se atrapa en la matriz del gel, formando una línea visible o banda de precipitación (18).

Para esta prueba se utiliza suero de aves, además del antígeno comercial elaborado a partir de membrana corioalantoidea de embriones de pollo, el medio utilizado es el de agarosa (19).

Cuando se utiliza esta prueba se emplea antígeno de referencia y producen líneas de identidad total (19).

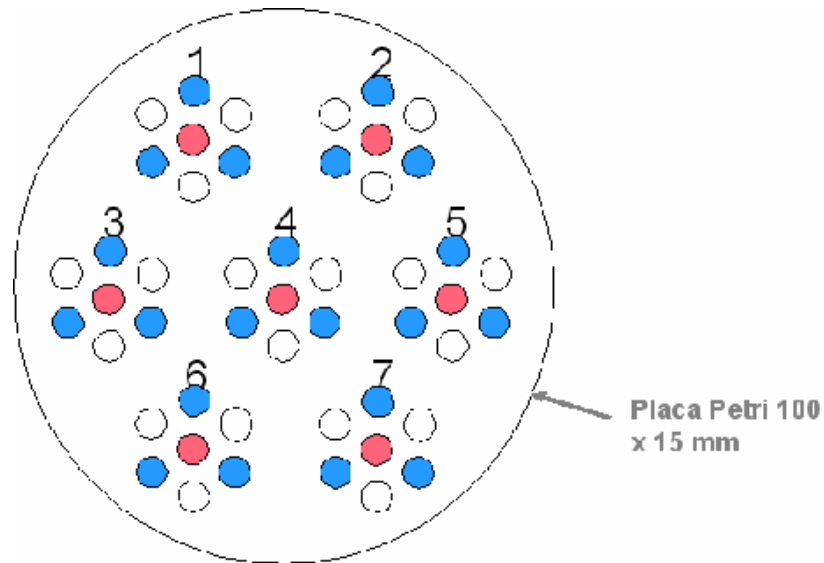
El agar tiene rosetas con 7 pozos, uno central y 6 rodeándolo, por cada roseta se pueden trabajar 3 sueros problema (19).

En el foso central se coloca el antígeno y en los 6 fosos restantes se colocan 3 controles positivos y los sueros problema. En cada placa de agar hay 5 rosetas para procesar hasta 15 muestras por placa (19).

Las rosetas se numeran en dirección de las agujas del reloj con la placa hacia el frente (16)

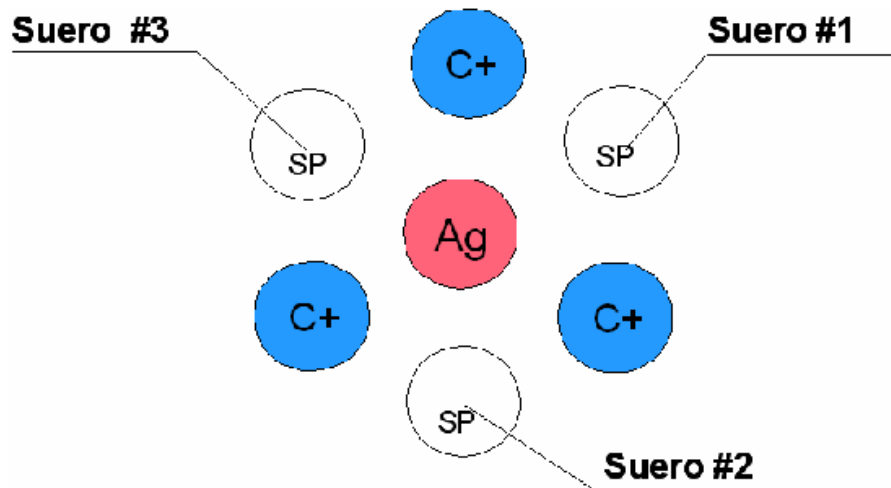
Los resultados se obtienen en 24 horas (19).

Esquema de Distribución de Rosetas Para AGID



(16)

Localización de los Sueros en cada Roseta



C+ = Suero control positivo

Ag = Antígeno

SP = Suero problema

(16)

4.1.9.2.2 INMUNOENSAYO CON ENZIMAS ASOCIADAS

Este se utiliza para detectar y medir anticuerpos presentes en el suero de aves, para lo cual se utilizan placas de microtitulación que constan de 96 celdillas o fosos. La prueba se lee utilizando un lector de placas en el cual la intensidad de color de cada muestra es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpos específicos presentes en la muestra, quedando registradas en densidades ópticas (D.O.) (15).

El ELISA indirecto es un test confiable y favorable a la semiautomatización, y por lo tanto, será útil para examinar un número alto de muestras, pero los resultados del test deben ser interpretados en parvadas y no como base individual. Las reacciones fuertemente positivas de ELISA se correlacionan bien con las de AGID. Sin embargo, reacciones en el rango de sospechosas deben confirmarse por AGID o HI. El umbral para reacciones positivas de ELISA debe ser fijado, para evitar falsos positivos. Los test de ELISA indirectos son hospedero-específicos aunque los kits comerciales disponibles detectan respuestas serológicas tanto en pollos como pavos (15).

Los procedimientos normales de AGID y ELISA pueden no detectar anticuerpos de los sueros obtenidos en aves acuáticas ya que la respuesta de anticuerpos hacia las proteínas núcleo en estas especies es altamente variable. Inhibidores no específicos que interfieren con la especificidad del proceso de inhibición de la hemoaglutinación pueden aparecer cuando se utiliza una suspensión de eritrocitos de pollo como indicador del sistema en ensayos con otros sueros aviares (15).

4.1.9.2.3 INHIBICIÓN DE LA HEMOAGLUTINACIÓN

Esta prueba se realiza a partir de muestras de suero, utilizando un serotipo específico de virus de influenza aviar; detecta y cuantifica anticuerpos específicos

presentes en sueros de aves, después de una infección o vacunación con virus de influenza aviar. La base de esta prueba, es la interacción de los anticuerpos específicos con la hemaglutinina viral homóloga, que inhibe la aglutinación de los eritrocitos (19).

El test de inhibición de la hemoaglutinación (HI) permite la diferenciación de los subtipos de hemaglutinina de los virus de influenza aviar, en la base del carácter antigénico de la H y es una prueba esencial de seguimiento para la confirmación de las muestras de sueros positivos a AGID. La especificidad de subtipo limita a la HI en el tamizaje inicial de aves o parvadas sospechosas, a menos que una dispersión secundaria de un subtipo de virus de influenza previamente identificado vaya a ser monitoreado (19)

La aglutinación positiva está indicada por un recubrimiento rojo granular difuso en la placa (19).

La ausencia de aglutinación se define por un botón granular difuso en el fondo de la placa (19).

Esquema Placa de 96 Fosos Fondo en "V"

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|
| A | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| B | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| C | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| D | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| E | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| F | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| G | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| H | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |

(16)

4.1.9.2.4 KIT DE CAMPO

La prueba de campo consiste en un inmunoensayo cromatográfico para la detección cualitativa del virus de influenza aviar en heces fecales o hisopado traqueal de aves (18).

Consiste en un dispositivo que tiene dos líneas una marca control (C), y otra para la muestra sospechosa (T) en la ventana de resultados, ambas marcas no son visibles antes de aplicar la muestra (18).

Para esta prueba, se obtiene una muestra de heces o hisopado traqueal del ave sospechosa con un hisopo, luego se introduce el hisopo en un tubo con diluyente, se mezcla y el sobrenadante se extrae y de este se añaden 4 o 5 gotas en el agujero del dispositivo (18).

Se espera de 20 a 30 minutos para verificar resultados, mientras eso sucede se puede ver como una línea de color morado forma la marca control, y si aparece la segunda línea (T) indica que la muestra contiene una cantidad suficiente de antígeno en el espécimen analizado (18).

4.1.9.3 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Entre las enfermedades con las que se debe hacer un diagnóstico diferencial son:

- Newcastle
- Cólera aviar
- Clamidiasis
- Micoplasmas
- Encefalitis virales
- Laringotraqueítis infecciosa (5, 24).

4.1.10 TRATAMIENTO

No existe tratamiento específico práctico para las infecciones por virus de influenza aviar.

Buen manejo, nutrición adecuada y antibióticos de amplio espectro, pueden reducir las pérdidas ocasionadas por infecciones secundarias (4).

4.1.11 PREVENCIÓN Y CONTROL

Se han utilizado varias estrategias para la prevención y control de influenza aviar a través del mundo. Estas estrategias de control han variado desde vivir con algunas cepas levemente patógenas de influenza aviar al extremo de implementar una costosa despoblación total para la erradicación del virus altamente patógeno. Históricamente los países positivos a influenza aviar han escogido el control o los requerimientos de erradicación para cumplir sus propias expectativas. Sin

embargo, la implementación de los acuerdos de comercio internacional y la estandarización de requerimientos de salud han acercado este desafío (13).

La Prevención está encaminada a fortalecer las prácticas de bioseguridad dentro de cada país o región y en cada granja o parvada:

- Establecer la regla de “Todo dentro todo fuera” en cada explotación (7,13).
- Evitar que la parvada entre en contacto con aves enfermas, así como del contacto directo e indirecto con aves silvestres, exóticas y migratorias (7,13).
- Permitir el ingreso a las granjas únicamente de los trabajadores y vehículos indispensables (7,13).
- Proveer de ropa limpia y lugares de desinfección a los empleados de las granjas (7,13).
- Limpiar y desinfectar cuidadosamente los vehículos que entren y salgan de las granjas (7,13).
- No prestar equipo u otro material a otras granjas (7,13).
- Limpiar y desinfectar cuidadosamente las galeras cada vez que tenga un lote nuevo de aves (7,13).
- Eliminar el estiércol, plumas y otros desperdicios de la parvada (7,13).
- Los huevos para incubar deben provenir de parvadas libres de influenza (7,13).

El control va dirigido a las recomendaciones y responsabilidades para contener brotes de influenza aviar causados por virus de patogenicidad variable, entre las cuales se mencionan:

- Establecer medidas de cuarentena, lo que reduce la posibilidad de propagación del virus (7,13).
- Realizar periódicamente vigilancia epidemiológica a nivel de campo por medio de aves centinelas para detectar tempranamente la presencia del virus y evitar nuevos brotes y evitar propagaciones de la enfermedad (7,13).
- Mantener un buen programa de desinfección en la explotación (7,13).
- Realizar vacunaciones, pero esta no se practica en áreas o países libres de la enfermedad (7,13)
- Practicar la erradicación, en caso de aparecer nuevos brotes (7,13)
- Reportar inmediatamente todos los brotes de influenza aviar a las autoridades sanitarias correspondientes (7,13).

4.1.12 VACUNACIÓN

Se encuentran vacunas disponibles pero principalmente desarrolladas para uso regional cuando una determinada cepa de virus de influenza ha estado causando problemas.

4.1.12.1 VACUNAS DE EMULSIÓN OLEOSA

Estas vacunas son elaboradas mediante una emulsificación en aceite mineral con el virus inactivado contenido en líquido alantoideo, recolectados en

huevos embrionados inoculados. Está emulsión retarda la disponibilidad del antígeno de la IA desde el sitio de inoculación de las vacunas, por lo tanto mejora la respuesta inmune (8,20).

Las vacunas en emulsión oleosa dan resultados positivos tanto a la inhibición de la hemoaglutinación (HI) como a la inmunodifusión en agar gel (AGID). Estos resultados positivos hacen imposible determinar si un lote ha sido expuesto e infectado con el virus desafiante, complicando el uso de este tipo de vacunas en un programa de control y/o erradicación (8,20).

4.1.12.2 VACUNAS RECOMBINANTES

Por medio de manipulación genética se inserta en el virus de vacuna de viruela aviar (VA), un gen de influenza aviar que codifica la hemoaglutinina deseada. Cuando el ave es inoculada con la vacuna de viruela aviar modificada, el ave desarrolla anticuerpos contra VA y también contra el antígeno HA que es producido durante la infección por la vacuna de virus VA (8,20).

Las aves vacunadas con la vacuna recombinante no se tornan positivas al test AGID. Los títulos de HI son muy bajos contra el antígeno sectorizado HA, pero quedan protegidos contra los signos severos de un posterior desafío con influenza aviar de baja patogenicidad (8,20).

La vacuna puede ser administrada a pollitos de un día de edad mediante una inyección subcutánea. (8,20).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 MATERIALES

5.1.1 RECURSOS HUMANOS

- Estudiante investigador
- Tres asesores médicos veterinarios
- Dos auxiliares de campo

5.1.2 RECURSOS DE LABORATORIO

Lavado de glóbulos rojos

- Aves donadoras de 4 a 8 semanas de edad.
- Jeringas
- Tubos de ensayo
- Anticoagulante alsever-s
- Centrífuga
- Pipeta pasteur
- Identificadores
- Refrigerador 2 a 8°C +/- 1

Inhibición de la hemoaglutinación (HI)

- Microplacas de 96 fosos fondo en "V"
- Micropipeta multicanal 25 microlitros
- Micropipeta monocanal 25 microlitros
- Puntas de micropipetas
- Recipientes para reactivos
- Rack para puntas

- Congelador -20° C
- Timer
- Solución buffer Ph 7.2 (PBS)

5.1.3 RECURSOS DE CAMPO

- Jeringas de 3 ml con aguja 23 G x 1
- Pajillas
- Masking tape
- Bolsas plásticas
- Lapicero
- Tijeras

5.1.4 RECURSOS DE TIPO BIOLÓGICO

- Sueros problema de anátidos de traspatio
- Glóbulos rojos al 1% para inhibición de la hemoaglutinación (HI).
provenientes de aves donadoras jóvenes no vacunadas.
- Antígeno de influenza aviar titulado a 4 dosis hemoaglutinantes.

5.1.5 CENTROS DE REFERENCIA

- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Biblioteca del Laboratorio de Ornitopatología y Avicultura de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Internet.

5.2 METODOLOGÍA

5.2.1 LOCALIZACIÓN Y DESCRIPCIÓN DEL ÁREA

La investigación se realizó en explotaciones de traspatio circundantes a una granja avícola en el municipio de San Raymundo, departamento de Guatemala.

El municipio de San Raymundo limita al norte con los municipios de El Chol y Granados, departamento de Baja Verapaz, al este con los municipios de Chuarrancho y Chinautla del departamento de Guatemala, al sur con San Pedro Sacatepéquez y al oeste con San Juan Sacatepéquez ambos pertenecientes al departamento de Guatemala.

Posee una extensión territorial de 114 km², tiene una precipitación pluvial que oscila entre 1,000 – 1,349 mm, la biotemperatura media anual varía entre 20 - 26°C, la relación de evapotranspiración potencial es de 1.0% y en los meses de mayo a noviembre las lluvias son mas frecuentes. La topografía del área se describe como relieve ondulado a accidentado y escarpado. La altitud esta entre los 650 a 1750 mtsnm. siendo con exactitud en San Raymundo de 1570mtsnm (25).

La población estimada al año 2007 es de 26,800 habitantes, de los cuales el 73% son indígenas principalmente de la etnia cakchiquel mientras el 27% restante es de origen ladino. (25)

En este municipio están ubicadas 4 granjas de engorde y 13 granjas de postura las cuales suman una población avícola aproximada de 911,392 aves (21).

5.2.2 DISEÑO DEL ESTUDIO

Es un estudio de tipo descriptivo de corte transversal, en el que se determinó serológicamente la presencia de anticuerpos contra la enfermedad de influenza aviar de baja patogenicidad H5N2 por medio de la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (HI) en anátidos de explotaciones de traspatio circundantes a una granja avícola semitecnificada en el municipio de San Raymundo, departamento de Guatemala en un radio de 3 Km. a la redonda.

5.2.3 METODOLOGÍA DE CAMPO

Se realizó un censo de los anátidos existentes en el área estipulada anteriormente y se solicitó autorización para muestrearlos, una vez hechos los contactos con los propietarios de las aves se procedió a obtener las muestras de sangre para luego extraer los sueros.

Para obtener la sangre de las aves se utilizó el método de punción braquial. Se expuso la vena por eliminación de algunas plumas en la superficie ventral de la región del ala. La vena puede observarse en la depresión formada por los músculos bíceps braquial y tríceps humeral.

Se desinfectó con alcohol el área de la punción; la aguja puede insertarse en dirección opuesta al flujo de sangre. Luego de obtenida la sangre, rápidamente se quita la aguja de la jeringa y se coloca en una pajilla suave transparente resbalando por las paredes de la misma, para así evitar la hemólisis de la muestra.

Se dejaron las pajillas con las muestras reposar por un tiempo para permitir que el suero se separe y luego se trasvasó.

Los sueros se identificaron y se guardaron en congelación hasta el momento de ser procesados en el laboratorio (anexo).

5.2.4 METODOLOGÍA DE LABORATORIO

5.2.4.1 PRUEBA DE HEMOAGLUTINACIÓN

- Se colocan 0.025 ul de solución buffer (PBS) en cada foso de fondo en “V” de la microplaca de la línea 1 a la línea 12.
- Se añaden 0.025 ul de la suspensión con el antígeno en la primera columna.
- Hacer diluciones de 0.025ul de la suspensión de antígeno a través de los fosos de la placa de la línea 1 hasta la línea 11.
- Se añade 0.025 ul de glóbulos rojos lavados de pollo en cada foso.
- Se mezcla la solución por medio de un mezclador eléctrico.
- Se deja reposar entre 30 y 40 minutos.
- La hemoaglutinación se determina por la observación de la presencia o ausencia de la formación de un botón rojo en el fondo de la placa.
- El título que muestre el antígeno se leerá de la dilución más alta que es donde se dará la hemoaglutinación completa, esto representa una unidad hemoaglutinante y se puede calcular a partir del rango inicial de dilución.

5.2.4.2 PRUEBA DE INHIBICION DE LA HEMOAGLUTINACIÓN

- Se utilizan placas de 96 fosos con fondo en “V”.
- Se colocan 0.025 ul de solución buffer (PBS) en cada foso de la microplaca de la línea 1 a la línea 12.
- Se adiciona 0.025 ul de suero problema de la columna “A” a la columna “H”.
- Hacer diluciones dobles del suero y solución PBS de la línea 1 a la línea 11.
- Añadir 0.025 ul de antígeno a cada foso de la línea 1 a la línea 11. La placa se deja reposar 30 minutos a temperatura ambiente.
- Agregar 0.025 ul de glóbulos rojos lavados de pollo al 1% a cada foso. Mezclar con un agitador y dejar reposar por 30 minutos.
- El título hemoaglutinante es la dilución más alta de suero en donde se inhibe completamente las 4 unidades hemaglutinantes del antígeno.

- Para lectura e interpretación de resultados se inclina la placa en un ángulo de 45° y se busca la mayor dilución de suero que muestra una completa inhibición de la hemoaglutinación (formación de una lágrima) y esto determina el título al cual corresponde cada suero.

5.2.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La información obtenida se procesó utilizando estadísticas descriptivas y la presentación de las mismas se hizo por medio de cuadros y gráficas.

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

Se analizaron 70 muestras de suero sanguíneo de anátidos de explotaciones de traspatio de un total de 101 aves censadas en cuatro caseríos circundantes a una explotación semitecnificada con serología positiva a influenza aviar de baja patogenicidad H5N2 en un radio de 3 Km. Los caseríos fueron: Los Cush, Llano de la Virgen, Los Chuj y Saxsuy.

No se muestreo al total de aves censadas debido a que los propietarios no autorizaron dicho procedimiento, esto debido principalmente a diferencias culturales e ideológicas con respecto al manejo y profilaxis de los animales.

De las 70 muestras analizadas, el 100 % fueron negativas según los resultados de la prueba de inhibición de la hemoaglutinación en la cual los títulos obtenidos en la totalidad de muestras fueron igual a cero.

El Programa Nacional de Sanidad Avícola PROSA-MAGA, realizó un estudio paralelo, en el cual se muestreo aves de las misma zona en la que se realizó el presente estudio, el cual incluyó gallináceas y anátidos mostrando serología positiva las gallinas. Esto quiere decir que aun expuestos los anátidos a otras aves que si se mostraron positivas a la presencia de títulos, éstos siguen mostrando títulos negativos o iguales a cero.

De acuerdo al monitoreo serológico paralelo que realizó el PROSA-MAGA en la misma zona que se realizó el estudio, se obtuvo que un 60.6% de las serologías mostró resultados positivos a influenza aviar de baja patogenicidad H5N2, por lo que se presume que los anátidos si se comportan como portadores sanos con serología negativa a HI, lo cual concuerda con las investigaciones descritas por Estudillo en anátidos de México.

VII. CONCLUSIONES

1. En la presente investigación las muestras de suero de anátidos de explotaciones de traspatio circundantes a una granja serológicamente positiva a Influenza Aviar de Baja Patogenicidad H5N2 en el municipio de San Raymundo analizadas por medio de la prueba serológica de Inhibición de la Hemoaglutinación HI fueron negativas en su totalidad.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Continuar con la vigilancia epidemiológica mientras persista el riesgo de infección.
2. Realizar programas de capacitación y concientización en las comunidades para promover la bioseguridad en las explotaciones avícolas así como la colaboración con las entidades sanitarias correspondientes.
3. Promover investigaciones utilizando técnicas moleculares de diagnóstico para la identificación y detección del virus de influenza aviar en anátidos.

IX. RESUMEN

La presente investigación se realizó en el Municipio de San Raymundo Departamento de Guatemala, en un radio de 3 Km. alrededor de una granja semitecnificada con serología positiva a Influenza aviar de Baja Patogenicidad H5N1. En esta área se encuentran localizados cinco caseríos los cuales son: Los Cush, Llano de la Virgen, Los Chuj y Saxsuy. Se censó y muestreo a los anátidos de explotaciones de traspatio con la prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación HI.

Con la colaboración del Departamento de Patología Aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala se pudo realizar la prueba de HI utilizando la técnica sugerida por OIE. El total de aves censadas fue de 101 y se muestreo a 70. De estas muestras, el 100% dió resultados negativos con títulos igual a cero.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se concluyó que no existe presencia de anticuerpos circulantes en anátidos contra la enfermedad de influenza aviar de baja patogenicidad H5N2 en las aves muestreadas.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Alexander, D. 2000. La historia de la influenza aviar en avicultura. Holanda, World Poultry. 191p.
2. Altman, R; Clubb, S; Dorrenstein, G; Quensberry, K. 1997. Avian Medicine and Surgery. Pennsylvania, US, Saunders. 1070 p. (Serie Veterinaria)
3. Beard, C. 1998. Avian influenza (en línea). consultado 18 ago 2007. Disponible en http://www.vet.uga.edu/vpp/gray_book/FAD/VND.htm
4. Brote de Influenza Aviar. 1994. El informador avícola. Guatemala: No.160 vol 3: 6 – 10.
5. Calnek, B. 1995. Enfermedades de las aves. Trad. J Mérito. Mexico, DF., El Manual Moderno. 1147p.
6. Capua, I; Marangon, S. 2000. La experiencia italiana: ¿Qué podemos Aprender de ella? Holanda, World Poultry. 191p.
7. Cardona, C. 2003. Avian influenza: Veterinary Medicine Extension. University of California Davis, CA (en línea). Consultado 15 ago. 2007. Disponible en http://www.vetmed.ucdavis.edu/vetex/INFPO_AvianInfluenzaFS.html
8. Charles, B. 2000. La vacunación puede ayudar a controlar la influenza aviar. Holanda, World Poultry 191p.
9. Entendiendo la influenza Aviar. 1995. Industria Avícola. Guatemala. No. 7: 8-10.

10. Estudillo, J. 2001. Las aves silvestres como difusoras de la influenza en la avicultura. Memorias del XVII Congreso Latinoamericano de Avicultura. Guatemala, ANAVI. 782 p.
11. Herrero, L. 2000. La cepa aviar del virus influenza: una nueva pandemia. Costa Rica, Universidad de Costa Rica (en línea). Consultado 10 ago. 2007. Disponible en <http://carinari.ucr.ac.cr/gacetapc/INFLUENZ.htm>
12. Fenner, F. 1992. Virología Veterinaria. Zaragoza, Es. Acribia. 691 p. (Serie Veterinaria)
13. Kreager, K. 1996. La bioseguridad y la influenza aviar y su relación con la industria productora de huevo para el plato. Memorias de la XXI Convención Anual de Especialistas en Ciencias Avícolas. Ed. Por Miguel Cenicerros; Marcos Jensen. Cancún, Mx, ANECA. 216 p.
14. La influenza aviar en México – memoria. 1997. Tecnología Avipecuaria. México. No. 119: 38.
15. Lamichane, CM. 1996. Prueba de ELISA para la detección de anticuerpos contra virus de la influenza aviar tipo A en el suero de pollos y pavos. Memorias de la XXI Convención anual Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas. Ed. Por Miguel Cenicerros; Marcos Jensen. Cancún, Mx, ANECA. 216 p.
16. Motta, L. 2007. Esquemas para pruebas inmunodifusión en agar gel y placa para inhibición de la hemoaglutinación. Laboratorio de Ornitopatología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de San Carlos de Guatemala. (Comunicación personal).

17. Northoff, E. 2004. Gripe aviar: Los patos domésticos podrían representar un nuevo peligro (en línea). Consultado 15 ago. 2007. Disponible en <http://www.fao.org>
18. Right choice diagnostics. 2007. Avian influenza virus ag device (en línea) Consultado 15 ago. 2007. Disponible en <http://www.rightchoicediag.com>
19. Senne, D. 2001. Diagnóstico de laboratorio de la influenza aviar. Memorias del XVII Congreso Latinoamericano de Avicultura. Guatemala, ANAVI. 782 p.
20. Shane, S. 2006. Detection, surveillance and vaccination against avian influenza. Holanda, World Poultry 187 p.
21. Sologaistoa, H. 2008. Programa Nacional de Sanidad Avícola: Prevalencia de Influenza aviar H5N2 serológica en Guatemala. Programa Nacional de Sanidad Avícola PROSA. Guatemala. (Comunicación personal).
22. Swayne, D. 2000. Influenza aviar: El virus y la enfermedad. Holanda. World Poultry. 191 p.
23. _____. 2002. Internacional status of avian influenza. Décimo seminario Internacional de Patología y Producción Aviar (Athens, GA). Seminario de actualización de patología y producción aviar. UGA. 1 disco compacto, 8mm.
24. Thomas, N; Hunter, B; Atkinson, C. 2007. Infectious diseases of wild birds. Blackwel. US. 484 p.
25. Zonas de vida de Guatemala (en línea). 2001. consultado 12 may 2008. Disponible en: <http://www.geocities.com/campesina/zonas.htm>

XI. ANEXOS

Tabla 1. Resultados de la Prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación para Influenza Aviar de Baja Patogenicidad H5N2 en Anátidos de Traspatio Circundantes a una Granja Avícola Semitecnificada en el Municipio de San Raymundo Departamento de Guatemala.

| CASERIO | No. MUESTRAS | TITULOS | RESULTADOS |
|--------------------|---------------------|---|-------------------|
| Los Chuj | 7 | 0,0,0,0,0,0,0 | Negativo |
| Llano de la Virgen | 32 | 0,0,0,0,0,0,0,0,0,0,0, 0,0,0,0,0,0,0,0,0,0,0, 0,0,0,0,0,0,0,0,0,0,0, 0,0 | Negativo |
| Saxsuy | 10 | 0,0,0,0,0,0,0,0,0,0 | Negativo |
| Los Cush | 21 | 0,0,0,0,0,0,0,0,0,0,0, 0,0,0,0,0,0,0,0,0,0,0, 0 | Negativo |

XI. APÉNDICE

Tabla 1. Prevalencia de Enfermedad de Influenza Aviar de Baja Patogenicidad H5N2 Según Serología en la República de Guatemala de los años 2000 a 2007. (21)

| Año | Prevalencia % |
|------------|----------------------|
| 2000 | 13.8 |
| 2001 | 12 |
| 2002 | 11 |
| 2003 | 6 |
| 2004 | 5 |
| 2005 | 3 |
| 2006 | 2 |
| 2007 | 0.9 |

Gráfica 1. Prevalencia de Influenza Aviar de Baja Patogenicidad H5N2 Según serología) en la República de Guatemala de los años 2000 a 2007. (21)

