

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS APLICADAS Y AMBIENTALES - U.D.C.A.
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y GESTIÓN DEL CONOCIMIENTO**

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

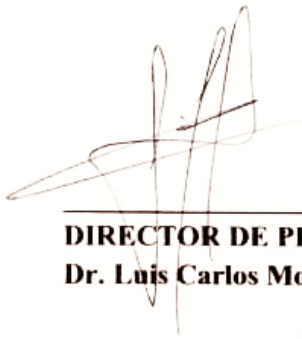


**SEROPREVALENCIA DE LAS ENFERMEDADES DE NEWCASTLE Y
BRONQUITIS INFECCIOSA EN GRANJAS DE POLLO DE ENGORDE DEL
DEPARTAMENTO DE CUNDINAMARCA DURANTE LOS AÑOS 2014-2018.**

**Presentado por
CARLOS ANDRÉS HERRERA GÓMEZ
CC: 1.030.671.358**

**Bogotá, Octubre
2019**

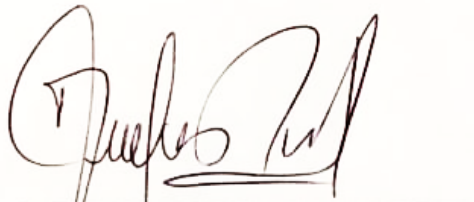
APROBACIÓN



DIRECTOR DE PROYECTO
Dr. Luis Carlos Monroy



JURADO
Dra. Rocío García



JURADO
Dr. Carlos Artunduaga

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi familia por el apoyo incondicional que me ha brindado a lo largo de todo este recorrido, por ser mi inspiración y la fuerza de voluntad que me ha llevado hasta este punto de mi vida. Agradezco a mi director de proyecto, el doctor Luis Carlos Monroy quien ha sido mi educador y me ha enseñado la responsabilidad de la vida profesional, además de ser el soporte necesario para culminar este proceso. Al personal del laboratorio IDC por brindarme su conocimiento y su experiencia. Agradezco a los docentes de la Universidad de ciencias aplicadas y ambientales quienes han sido parte de mi formación y me han educado en todo este camino. A mi compañera Geraldine Uessler por su ayuda y acompañamiento durante este proceso. Finalmente Agradezco a los evaluadores quienes dedican parte de su tiempo y conocimiento a enriquecer mi formación como médico veterinario zootecnista.

RESUMEN

La industria avícola del pollo de engorde forma parte importante de la economía colombiana ya que es la proteína animal de mayor consumo en el país; gran parte de la producción de este producto es originaria del departamento de Cundinamarca -, sin embargo, por ese mismo hecho la probabilidad de que se presenten focos de enfermedades infecciosas y que se diseminen rápidamente, es más alta. Dos de las enfermedades infecciosas de mayor impacto para el sector avícola colombiano son la enfermedad de Newcastle (ENC) y la bronquitis infecciosa (BI), por lo tanto, es necesario hacer énfasis en la prevención de estas y conocer su comportamiento dentro de las granjas. Teniendo en cuenta esto, el objetivo general del presente estudio fue determinar la seroprevalencia y el comportamiento serológico del virus de la enfermedad de Newcastle y el virus de la Bronquitis infecciosa en diferentes granjas de una empresa productora de pollos de engorde ubicadas en diferentes zonas del departamento de Cundinamarca desde el 2014 hasta el 2018. Para cumplir con el objetivo se tomaron datos recopilados por el Laboratorio IDC de la ciudad de Bogotá durante los 4 años de estudio, obtenidos mediante técnicas de diagnóstico serológico como inhibición de la hemaglutinación (HI) para ENC y ELISA indirecta para BI y también en algunos pocos casos para ENC. Dichas muestras corresponden a animales de entre 4 a 6 semanas de edad provenientes de 11 granjas diferentes (A-K). Los resultados se organizaron en una base de datos de forma que se pudieran graficar de acuerdo con datos estadísticos como la media geométrica, la desviación estándar, el coeficiente de variación, el título máximo y el título mínimo. Los datos obtenidos por HI para ENC mostraron la tendencia de mantenerse entre los títulos 64 y 256 siendo 128 el título promedio. No se consideró ningún caso como positivo para ENC debido a que no se presentó sintomatología clínica, pero se determinaron como sospechosos aquellos con títulos superiores a 128 (34,2% de los casos), especialmente aquellos con títulos superiores a 256 es decir el presentado en la granja E y en la granja I en el 2016 con títulos promedio de 338 y 734 respectivamente. Los resultados obtenidos por ELISA mostraron en su gran mayoría, mantenerse en títulos bajos por debajo de los 4000, que es lo recomendado, salvo un solo caso de la granja A (4,8% de los casos) cuyo resultado fue de 5070 y se consideró como sospechoso según lo reportado en estudios similares. En cuanto a los resultados de BI, la tendencia a lo largo de los 4 años de estudio fue que los resultados de todas las granjas se mantuvieran alrededor del título 1000, sin embargo, varios casos sobrepasaron este margen (44,7% de los casos) y algunos llegaron hasta títulos de entre 2500 y 6000 o más, los cuales tuvieron mayor relevancia (28,3% de los casos). Los coeficientes de variación en general fueron muy elevados, lo cual lleva a sospechar que la cobertura vacunal no fue la mejor, sin embargo, esto no corresponde con los resultados ya mencionados, donde pocos casos se consideraron positivos o sospechosos.

Palabras clave: Enfermedad de Newcastle, Bronquitis infecciosa, anticuerpos, vacunas, pollo de engorde, seroprevalencia.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	4
TABLA DE CONTENIDO.....	5
LISTA DE ILUSTRACIONES.....	6
LISTA DE GRÁFICOS.....	6
LISTA DE TABLAS.....	6
1. INTRODUCCIÓN.....	8
2. OBJETIVOS.....	11
2.1. Objetivo general.....	11
2.2. Objetivos específicos.....	11
3. REVISIÓN DE LITERATURA.....	12
3.1. Fisiología sistema inmune aviar.....	12
3.2. Impacto económico de las enfermedades en la avicultura.....	17
3.3. Enfermedad de Newcastle:.....	19
3.3.1. Etiología.....	19
3.3.2 Distribución epidemiológica y transmisión.....	20
3.3.3. Patogenia y periodo de incubación.....	21
3.3.4. Signos clínicos.....	22
3.3.5. Patología.....	24
3.3.6. Diagnóstico.....	25
3.3.7. Prevención y control.....	27
3.4. Bronquitis infecciosa aviar:.....	28
3.4.1. Etiología.....	28
3.4.2. Distribución epidemiológica y transmisión.....	29
3.4.3. Patogenia y periodos de incubación.....	30
3.4.4. Signos clínicos.....	31
3.4.5. Patología.....	33
3.4.6. Diagnóstico.....	35
3.4.7. Prevención y control.....	36
3.5. Antecedentes.....	37
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	39
4.1. Población y muestra.....	39
4.2. Metodología y procedimiento.....	41
4.3. Diseño estadístico.....	46
5. RESULTADOS.....	47
5.1. Resultados generales de la empresa.....	47
5.2. Resultados por regiones.....	51
5.2.1. Región de Gualivá.....	51
5.2.2. Región de Oriente.....	54
5.2.3. Región de Tequendama.....	57
5.3. Interpretación de los resultados y determinación de la seroprevalencia.....	57
6. DISCUSIÓN.....	59
7. CONCLUSIÓN.....	64
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66

LISTA DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1 Tiempo de respuesta de ambos tipos de inmunidad.....	14
Ilustración 2 Mapa de las notificaciones de aves con cuadros clínicos respiratorios y/o nerviosos compatibles con enfermedades de control oficial en Colombia.....	18
Ilustración 3 Estructura y proteínas virales del virus de ENC.....	20
Ilustración 4 Trastornos nerviosos y depresión vistos en la ENC.....	23
Ilustración 5 Comparación de proventrículo y molleja de un animal sano y uno con ENC clínica.....	25
Ilustración 6 Caracterización del virus de BI y sus proteínas estructurales.....	29
Ilustración 7 Signos respiratorios (cabeza hinchada, secreción nasal) vistos en BI.....	32
Ilustración 8 Alteración en la cascara de huevos producidos por animales con BI.....	33
Ilustración 9 Inflamación y congestión de la tráquea de animales con BI.....	34
Ilustración 10 Comparación del oviducto de un animal sano y uno con BI.....	35
Ilustración 11 Mapa de Cundinamarca y regiones señaladas que son objeto de estudio.....	40
Ilustración 12 Pasos de una ELISA indirecta.....	44
Ilustración 13 Esquema gráfico del HI.....	45

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 Comportamiento serológico para el virus de ENC de la empresa en general obtenido por HI.....	47
Gráfico 2 Comportamiento serológico para el virus de ENC de la empresa en general obtenido por ELISA indirecta marca IDEXX®.....	49
Gráfico 3 Comportamiento serológico para el virus de BI de la empresa en general obtenido por ELISA indirecta marca IDEXX®.....	50
Gráfico 4 Comportamiento serológico para el virus de ENC de la región Gualivá obtenido por HI.....	52
Gráfico 5 Comportamiento serológico para el virus de ENC de la región Gualivá obtenido por ELISA indirecta marca IDEXX®.....	53
Gráfico 6 Comportamiento serológico para el virus de BI de la región Gualivá obtenido por ELISA indirecta marca IDEXX®.....	54
Gráfico 7 Comportamiento serológico para el virus de ENC de la región Oriente obtenido por HI.....	55
Gráfico 8 Comportamiento serológico para el virus de ENC de la región Oriente obtenido por ELISA indirecta marca IDEXX®.....	56
Gráfico 9 Comportamiento serológico para el virus de BI de la región Oriente obtenido por ELISA indirecta marca IDEXX®.....	57

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Características de las respuestas inmunes innata y adquirida.....	12
---	----

Tabla 2 Número de muestras analizadas para BI por granja durante el periodo 2014-2018	40
Tabla 3 Número de muestras analizadas para ENC por granja durante el periodo 2014-2018 (En negrita las muestras analizadas por ELISA).....	41
Tabla 4 Fechas de las visitas a las granjas para la realización del muestreo	41
Tabla 5 Distribución geográfica de las granjas de acuerdo con su región y municipio.	51
Tabla 6 Número de casos y Seroprevalencia.	58

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas son las más importantes para el sector avícola y aquellas que representan mayores costos de producción, por lo que la clave de un sistema productivo eficiente que genere ganancias importantes, es disminuir dichos costos evitando la entrada y la propagación de agentes patógenos por medio de vacunación y control serológico, junto con la implementación de estrictos programas de bioseguridad, protocolos de limpieza y desinfección, control integrado de plagas y aves silvestres, así como la tecnificación de los procesos productivos (Jaimes, y otros, 2013). Teniendo en cuenta lo anterior, se hace importante conocer el estado actual de las granjas frente a las enfermedades de Newcastle (ENC) y Bronquitis Infecciosa (BI) mediante pruebas serológicas y análisis detallados de los resultados que permitan conocer el estado sanitario y evidenciar alteraciones en los diferentes lotes.

La industria avícola del pollo de engorde constituye una de las principales actividades agropecuarias realizadas por el hombre a nivel mundial, esto se debe a que el ciclo de producción es corto y con el manejo adecuado de los animales sanos, se logra una buena conversión alimenticia lo que permite obtener carne de buena calidad (Dimitrov, Ramey, Qiu, Bahl, & Afonso, 2016). Sin embargo, los sistemas pecuarios dedicados a la explotación avícola se encuentran amenazados por el aumento de las enfermedades infecciosas que generan grandes pérdidas económicas para los productores.

La BI, se encuentra asociada a un cuadro clínico de tipo respiratorio caracterizado por ser de curso agudo, ocasionando dificultad para respirar, estornudos, tos, descargas nasales y oculares. En pollos de engorde provoca una pobre ganancia de peso y existe una forma de presentación renal que se relaciona con el síndrome de nefritis y nefrosis (Córdoba, Vera, Correa, & Ramírez, 2015). Para el diagnóstico de esta enfermedad se utiliza la prueba diagnóstica ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas) tipo indirecta, que muestra la tendencia de la enfermedad por medio de los títulos de anticuerpos y la inmunidad que presentan las aves frente a este patógeno (Pradhan, y otros, 2014). De igual manera, ENC afecta la producción al disminuir la conversión alimenticia; esta tiene tres formas de presentación: lentogénica o leve, mesogénica o moderada, y velogénica o muy virulenta. La forma usual es una infección respiratoria, pero los signos clínicos predominantes pueden ser depresión, manifestaciones nerviosas o diarrea. La forma neurotrópica de la enfermedad se manifiesta clínicamente con ataxia, tortícolis, paresia y parálisis de las piernas. Esta forma se acompaña frecuentemente con síntomas respiratorios (Abdisa & Tolera, 2017).

La ENC se reporta por primera vez a inicios del año de 1926 y desde entonces, debido al aumento de la industria avícola y a especies migratorias que transportan el virus, la patología se ha diseminado a muchos países (Ganar, Das, Sinha, & Kumar, 2014), siendo las

gallináceas las especies más afectadas. Esto ha generado pérdidas monumentales a la economía mundial asociado a diferentes factores, como son: la alta mortalidad, el sacrificio sanitario realizado para evitar la mayor diseminación de la enfermedad y las restricciones en el comercio de aves y sus productos. Desde entonces los casos reportados han sido numerosos (Orsi, y otros, 2010).

Uno de los factores que permite una mayor diseminación de la enfermedad tanto nacional como internacionalmente son los grupos de aves de traspatio, estudios realizados en Colombia, reportan que aproximadamente el 30.7% de las aves de corral encontradas presentaban la enfermedad, datos similares fueron hallados en Australia y Etiopía (Romero, Narvaez, & Sánchez, 2009). Así mismo, la diseminación de la enfermedad se ve favorecida por el inadecuado manejo de compostaje en estas producciones de traspatio, ya que se ha demostrado que tanto la gallinaza como la pollinaza que ha sido tomada como muestra de estudios, revela que el 99.2% está contaminada con el virus de la Enfermedad de Newcastle (Ganar, Das, Sinha, & Kumar, 2014). Lo anterior se debe a que el patógeno puede vivir por largos periodos de tiempo en las heces y/o el agua si se encuentra a una temperatura inferior a 20°C, además de que las técnicas para la eliminación de los microorganismos patógenos de dicho material son inadecuadas (Romero, Narvaez, & Sánchez, 2009). Por ende, se puede deducir que las fuentes de contaminación para la avicultura organizada son muchas y que los métodos de prevención y control deben ser estrictos y adecuados, por lo tanto, es fundamental conocer la situación actual de las granjas frente a estas enfermedades a lo largo del tiempo.

En cuanto al virus de la Bronquitis Infecciosa, desde la descripción de la sintomatología por primera vez en el año de 1935 hasta el presente, ha tenido una amplia distribución mundial y se considera una de las enfermedades virales que generan mayor impacto en la industria avícola. En América Latina el primer caso descubierto fue en Brasil, este virus altamente infeccioso tiene la capacidad de diseminarse rápidamente de forma horizontal, lo que ha ocasionado que actualmente sea endémico en varios países del continente, entre ellos Colombia (Padilha de Fraga, y otros, 2018).

Uno de los retos de las producciones avícolas es desarrollar una inmunidad adecuada en las aves para tener una mayor protección contra alguna infección y así, disminuir la propagación de esta dentro del sistema (Kapczynski, Afonso, & Miller, 2013). ENC y BI son enfermedades endémicas en Colombia, en donde una estrecha vigilancia de los signos que presenta una población y el diagnóstico temprano del patógeno es fundamental para evitar su propagación (Ganar, Das, Sinha, & Kumar, 2014).

Un diagnóstico exitoso se basa en la historia clínica, la detección del antígeno, el aislamiento viral o por medio de resultados que se pueden obtener en pruebas serológicas como ELISA, la aglutinación rápida en placa, inmunofluorescencia, entre otras, las cuales permiten evaluar

los anticuerpos posteriores a procesos vacunales o ante desafíos de campo (Acevedo, 2017). Los métodos de serodiagnóstico permiten analizar un mayor número de muestras en un corto periodo de tiempo y de esta forma se evalúa adecuadamente el estado inmune de una población animal, esta característica es de gran importancia ya que permite mantener una vigilancia epidemiológica dentro de la explotación por lo que es posible confirmar o descartar si una parvada en específico se enfrentó a una infección con un virus de campo (Lopez, Mcfarlane, & Ulloa, 2006). La prueba diagnóstica ELISA presenta una sensibilidad entre el 96 y el 98% y una especificidad del 98 al 100% (Das & Kumar, 2015), valores que dan confianza al productor sobre los resultados que se están obteniendo, método práctico que permite establecer líneas base para un sistema productivo.

El principal impedimento para la exportación de productos de origen avícola a otros países es la presencia de diversas enfermedades infecciosas que están distribuidas en toda Colombia. El Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) es el encargado de ejercer control sobre estas enfermedades, entre las más importantes se encuentra la enfermedad de Newcastle, por lo que constantemente implementan proyectos para la prevención de su propagación en colaboración con instituciones como Fenavi (Hernández, Mateus, Contreras, & Nieto, 2005).

El sector avícola en el 2017 tuvo el mayor crecimiento en la rama agropecuaria en comparación con otros sectores, sin embargo, la ENC es uno de los principales retos a tratar. El último brote de la enfermedad tuvo lugar en enero de 2018 en Cundinamarca, desde entonces se están implementando estrategias para mejorar en materia de bioseguridad con el fin de prevenir, controlar y erradicar el virus en el país, en donde se espera que para el año 2020 se tengan controlados los continuos brotes que afectan las explotaciones colombianas (ICA, 2018). Estos programas de erradicación de enfermedades de reporte obligatorio en Colombia, permite que en un futuro se pueda abrir la brecha de la exportación y que el TLC con otros países, permita que empresas colombianas sean capaces de competir en el mercado con la calidad e inocuidad de sus productos (Jaimes, y otros, 2013), teniendo en cuenta lo anterior es sumamente importante mantener a los animales protegidos y sin presencia de signos clínicos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Determinar la seroprevalencia y el comportamiento serológico del virus de la enfermedad de Newcastle y el virus de la Bronquitis infecciosa en diferentes granjas de una empresa productora de pollo de engorde ubicadas en diferentes zonas del departamento de Cundinamarca desde el 2014 hasta el 2018.

2.2. Objetivos específicos

- Definir el promedio de títulos de anticuerpos presentado en cada granja de acuerdo con el plan vacunal utilizado por la empresa productora.
- Comparar y analizar los resultados obtenidos entre granjas y entre periodos de tiempo en relación con el promedio de títulos de forma que permita resaltar la posible casuística de las enfermedades.
- Determinar a partir de los resultados obtenidos, la uniformidad y efectividad de los procesos de vacunación en cada granja de la empresa productora y evaluar el comportamiento serológico de las vacunas.

3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Fisiología sistema inmune aviar

La función fisiológica del sistema inmune consiste en la defensa contra los microorganismos infecciosos. Sin embargo, incluso una sustancia ajena que no tenga carácter infeccioso puede despertar una respuesta inmune. Así mismo, aquellos mecanismos que en condiciones normales protegen a los individuos de las infecciones y eliminan las sustancias ajenas, en algunas circunstancias también son capaces de provocar una lesión tisular y una enfermedad. Por tanto, una definición más global de la respuesta inmunitaria señala que es una reacción desplegada tanto frente a los componentes de los microorganismos como a macromoléculas, del tipo de las proteínas y los polisacáridos, y a pequeños compuestos químicos que sean reconocidos como ajenos, con independencia de las consecuencias fisiológicas o patológicas que pueda acarrear una reacción de esta clase. (Abbas, Lichtman, & Pillai, 1991).

Para ejecutar correctamente su función, el organismo posee células y produce diversas moléculas, la respuesta obtenida por parte del sistema inmune luego de la entrada de sustancias extrañas al organismo se denomina respuesta inmune, pero no siempre esta respuesta protege la fisiología del animal, ya que si ésta es inadecuada es capaz de producir enfermedad como es el caso de las enfermedades inmunomediadas como por el ejemplo el Linaje Obeso que es causado por una tiroiditis crónica mediada por mecanismos humorales y celulares. Para entender de mejor forma estas respuestas son clasificadas en inmunidad natural o innata e inmunidad adquirida cuyas características principales se muestran a continuación (Macari, Furlan, & Gonzales, 2002).

Tabla 1 Características de las respuestas inmunes innata y adquirida.

CARACTERÍSTICAS	INNATA	ADQUIRIDA
Especificidad	Relativamente baja	Alta
Diversidad	Limitada	Amplia
Especialización	Respuesta estandarizada	Altamente especial
Memoria	No	Sí
COMPONENTES	INNATA	ADQUIRIDA
Barreras físicas y químicas	Piel, mucosas, sustancias antimicrobianas	Sistema inmune cutáneo y mucoso, anticuerpos secretados
Proteínas séricas	Complemento	Anticuerpos
Células	Fagocitos (Macrófagos, Heterófilos, Trombocitos) Células NK	Linfocitos

(Modificado de ABBAS et al., 1991)

La inmunidad innata no solo es responsable de la primera línea de defensa ante agentes patógenos, también participa en la inducción de respuestas inmunes específicas. Por ejemplo, los macrófagos, en respuesta a un estímulo inflamatorio, libera citoquinas que promueven la activación de linfocitos específicos para un determinado microorganismo, de esa forma los linfocitos T también son capaces de liberar citoquinas que activan macrófagos, mostrando una interacción entre ambos tipos de respuesta inmune (Perozo, 2015).

Cuando el organismo es expuesto a un antígeno extraño, las respuestas inmunes específicas se activan, esta forma de inmunidad es denominada inmunidad activa, ya que es necesaria la acción de diferentes elementos del organismo. Sin embargo, es posible presentar una respuesta inmune específica sin que haya una acción activa del organismo, a través de transferencia de células o de anticuerpos de un individuo a otro previamente inmunizado, este tipo de inmunidad se denomina inmunidad pasiva. Teniendo en cuenta lo anterior, las respuestas inmunes específicas se pueden clasificar en dos tipos basándonos en los componentes que participan en las respuestas, estas son inmunidad humoral e inmunidad celular (Gómez, Lopez, Maldonado, & Ávila, 2010).

La inmunidad humoral es mediada por anticuerpos responsables del reconocimiento y la eliminación de los antígenos y que pueden ser transferidas a través del suero o del plasma de un animal inmunizado a otro no inmunizado. Este tipo de inmunidad es muy importante en la avicultura ya que gran parte de los virus patógenos para las aves inducen este tipo de respuesta. Por eso es fundamental la correcta vacunación tanto de los pollitos como de las madres para que haya una producción y transferencia de anticuerpos dando una inmunidad eficiente en las primeras semanas de vida. La inmunidad celular en las respuestas inmunes específicas es mediada por los linfocitos T, la transferencia de este tipo de inmunidad debe hacerse mediante la transferencia de Linfocitos T de animales inmunizados, sin embargo, la transferencia de suero y plasma no es eficiente en este caso (Abbas, Lichtman, & Pillai, 1991).

Las respuestas inmunes inician tras el reconocimiento de un antígeno que el organismo considera extraño. Entonces ocurre la activación de linfocitos que reconocen específicamente aquellos antígenos y empiezan a realizar acciones para eliminarlos. Las respuestas inmunes pueden ser divididas en tres fases: Fase de reconocimiento, fase de activación y fase efectora.

Fase reconocimiento: Los antígenos se ligan a los receptores presentes en los linfocitos. Los linfocitos T poseen receptores capaces de reconocer pequeñas secuencias de péptidos en antígenos proteicos. Los linfocitos B a su vez expresan moléculas de anticuerpos en su superficie celular, esas moléculas son capaces de ligarse a una amplia variedad de sustancias químicas como proteínas, lípidos, polisacáridos, y otras las cuales pueden estar ligadas a una célula o no.

Fase de activación: Las respuestas que ocurren después del reconocimiento del antígeno son básicamente dos. La primera es la proliferación celular. Inicialmente se da una proliferación de células iguales a la que reconoció el antígeno para amplificar la respuesta de reconocimiento. Los linfocitos T activados pasan a secretar sustancias capaces de activar fagocitos (citoquinas) aumentando su capacidad de fagocitar y de destruir los antígenos. Luego se da la diferenciación celular, las células tienen su fisiología modificada y alteran su función, algunas pasan a tener la capacidad de destruir el antígeno con mayor eficiencia. Otras se modifican a células de memoria, las cuales sobreviven para responder en caso de una reexposición (Macari, Furlan, & Gonzales, 2002).

En general para que se dé la activación de los linfocitos son necesarias dos tipos de señal, una emitida por los mismos antígenos y otra generada por otras células denominadas células presentadoras de antígeno. Si el antígeno es presentado junto con una molécula del CMH tipo I (presente en casi todas las células nucleadas), el linfocito T activado pasará a ser de tipo CD8+ (citotóxico), pero si es presentado junto con una molécula del CMH tipo II (Presente en las células presentadoras de antígeno) pasará a ser CD4+ (helper) (Perozo, 2015). Además, teniendo en cuenta que existen dos tipos de Linfocitos T helper, Th1 y Th2 se producirán respuestas diferentes, si la respuesta es mediada por linfocitos Th1 las citoquinas producidas llevarán a la generación de una respuesta inmune celular y si es mediada por linfocitos Th2 se liberarán otras citoquinas que llevarán a una respuesta inmune humoral (Abbas, Lichtman, & Pillai, 1991).

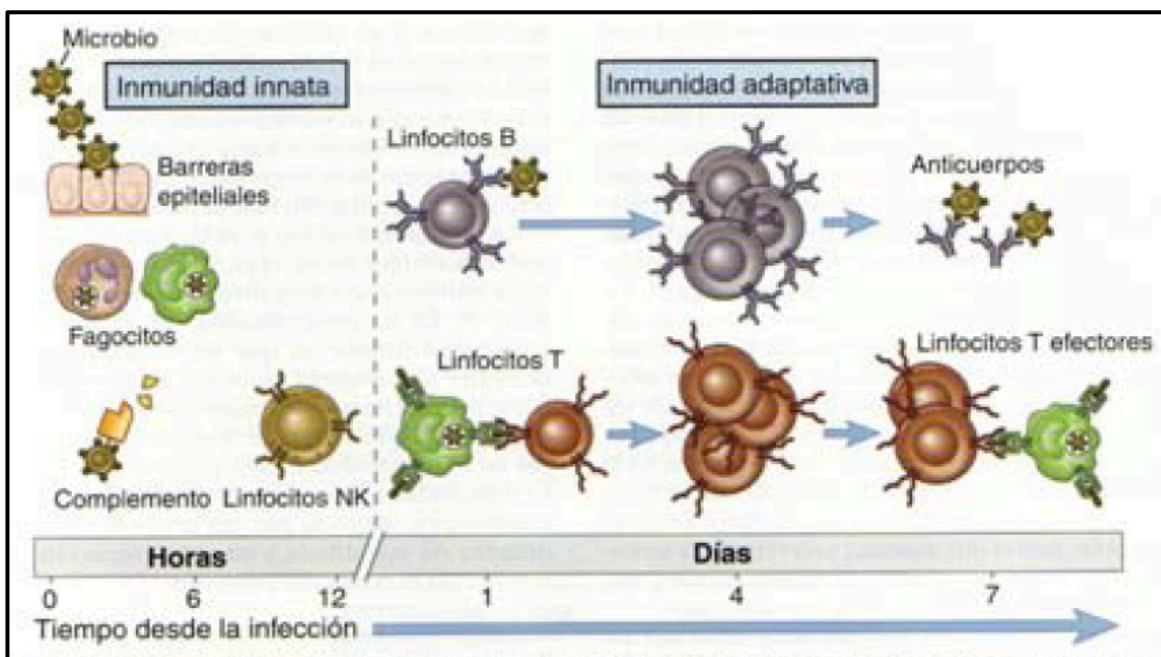


Ilustración 1 Tiempo de respuesta de ambos tipos de inmunidad.

(Abbas, Lichtman, & Pillai, 1991)

Los anticuerpos también son capaces de activar el sistema del complemento, las cuales son proteínas plasmáticas que pueden, por sí solas, causar la lisis de una bacteria o pueden ayudar la fagocitosis de esa bacteria por parte de los fagocitos (Macari, Furlan, & Gonzales, 2002).

La reacción inflamatoria de las aves se caracteriza por un aumento en la permeabilidad vascular. La histamina y la serotonina 5-HT son mediadores de ese aumento de la permeabilidad durante un proceso inflamatorio. Por otro lado, al contrario que ocurre en los mamíferos, la bradicina parece no ser un mediador en el aumento de la permeabilidad. Las prostaglandinas representan alguna importancia apenas en las fases más tardías de la reacción inflamatoria. El aumento en la permeabilidad ocurre casi que inmediatamente después del estímulo, no en tanto la migración de leucocitos inicia más tardíamente (Perozo, 2015).

Aunque el sistema inmune de las aves funciona de manera similar al de los mamíferos, existen ciertas diferencias. Las aves originarias de los linajes y cruces de *Gallus gallus* no presentan linfonódulos, por ende, presentan un órgano único denominado bursa de Fabricio. En la gallina el timo presenta la forma de dos cordones de siete lobulaciones cada uno. También podemos encontrar una concentración de tejido linfoide en la región oculonasal denominada glándula de Harder. También están presentes los tejidos linfoides asociados a intestino y bronquios. En un órgano linfoide existen compartimentos separados donde ocurre la presentación del antígeno por parte de las células presentadoras de antígeno a los linfocitos T, las interacciones entre los linfocitos T y B y la producción de anticuerpos (Gómez, Lopez, Maldonado, & Ávila, 2010).

La medula ósea y la bursa de Fabricio, sitio de activación y diferenciación de los linfocitos B, y el timo donde se activan y diferencian los linfocitos T son considerados órganos linfoides primarios. El bazo por su parte es considerado como órgano linfoide secundario o periférico. El tejido inmune asociado a intestino es fundamental en las aves ya que en la avicultura existen múltiples agentes patógenos presentes a lo largo del tubo digestivo. Los componentes no linfoides del sistema inmune están representados por los macrófagos y los heterófilos (Abbas, Lichtman, & Pillai, 1991).

Los tipos celulares encontrados parecen obedecer a un mismo patrón, sin importar cuál sea el estímulo inflamatorio. Siendo así el patrón: inicialmente se encontrarán heterófilos y monocitos, seguido por una migración de basófilos (parece ser una característica propia de la reacción inflamatoria en las aves). Los linfocitos aparecen en el sitio de la lesión más tarde (Perozo, 2015). Los Macrófagos son considerados la primera línea de defensa contra agentes infecciosos debido a su participación tanto en la inmunidad innata como adquirida, están ampliamente distribuido por todo el organismo (fluidos, órganos y cavidades), poseen la capacidad de ligar, envolver y destruir sustancias extrañas y la comunicación celular debido a la gran cantidad de sustancias que produce. También produce grandes cantidades de IL1 en

animales enfermos, esta se encarga de dar la apariencia y el comportamiento de enfermedad en el animal (disminución del apetito y de la actividad general, también puede generar fiebre). Por otro lado, cuando se forma un aglomerado de macrófagos se forma una célula gigante, la cual se encuentra en los estadios más tardíos de la inflamación aguda (en los mamíferos se encuentran en inflamación crónica) (Gómez, Lopez, Maldonado, & Ávila, 2010).

Los Heterófilos equivalen a los neutrófilos de los mamíferos, también son fagocitos, ejercen una actividad importante en la resistencia inespecífica a las infecciones mientras se genera una respuesta inmune adquirida. Son importantes en el tracto respiratorio de las aves debido a la ausencia de macrófagos en esta región del organismo, por lo tanto, allí representan la primera línea de defensa en caso de injuria. Durante la inflamación su comportamiento es similar al de los neutrófilos de los mamíferos, la degranulación de los mastocitos lleva a una vasodilatación para aumentar la cantidad de heterófilos en el sitio de la lesión. (Macari, Furlan, & Gonzales, 2002). Durante la inflamación aguda, ocurre un aumento en el número de heterófilos en la sangre teniendo su pico a las 12 horas después del estímulo, también se evidencia desviación a la izquierda donde se verifica la producción de citoquinas que lleva al reclutamiento de células jóvenes desde la médula ósea. Una infiltración extensa de heterófilos genera una masa caseosa en el sitio afectado, para la resolución del proceso se acumulan macrófagos, células epiteliales y células del tejido conjuntivo formando el llamado granuloma heterofilico (Abbas, Lichtman, & Pillai, 1991).

Los Linfocitos hacen parte del grupo de los agranulocitos junto con los macrófagos, monocitos y los trombocitos. Se pueden clasificar en linfocitos grandes y pequeños, estos últimos a su vez se dividen en linfocitos T y B. Mientras que los grandes también se conocen como exterminadoras naturales o NK (Perozo, 2015). Mientras que los linfocitos B reconocen los antígenos utilizando inmunoglobulinas de alta especificidad para expresarlas en su superficie, los linfocitos T no son capaces de reconocer el antígeno solo. Para que haya un reconocimiento es necesario que ese antígeno sea presentado por las células presentadoras de antígeno junto con moléculas en la superficie de esas células, las cuales son producto del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). Estas moléculas son de dos tipos, el tipo 1 y el tipo 2 (también llamados B-F y B-L, en los pollos, existe un tercer MHC denominado B-G, este no aparece en los mamíferos, es expresado por los linfocitos y los eritrocitos a pesar de que su función no es muy clara). Los Linfocitos NK están encargados principalmente de la eliminación de células tumorales y células infectadas por virus (Macari, Furlan, & Gonzales, 2002).

Las citoquinas son importantes mediadores de la respuesta inmune. Estas moléculas pueden actuar de forma autocrina (sobre la misma célula que la produce), paracrina (células cercanas a la que la produce) o endocrina (alcanza la sangre). Son divididas en varios grupos según su función: Interleuquinas realizan comunicación entre leucocitos, Factores estimuladores de

colonia estimulan la proliferación de linajes celulares. Son producidas durante la fase de activación y la fase efectora tanto en respuesta inmune específica como innata. Además, también participan en la resistencia a enfermedades, la cicatrización, el metabolismo óseo, el crecimiento, el apetito y la reproducción (Gómez, Lopez, Maldonado, & Ávila, 2010).

El sistema de complemento es un conjunto de proteínas presentes en el plasma. Generalmente los precursores están inactivos, pero pueden ser activados por la vía clásica o por la vía alternativa. En la vía clásica cuando el anticuerpo se encuentra con el antígeno, se da la exposición del sitio activo de la porción constante del anticuerpo, este sitio activo se liga a la molécula C1 del sistema complemento llevando a una serie de reacciones en cascada con la formación de varios elementos con diferentes actividades en la inmunidad. Uno de los productos liberados es el fragmento C3 que activa la fagocitosis. Otros productos son capaces de inducir quimiotaxis, aumentando el número de fagocitos en el lugar de la infección. La vía alternativa se da sin que haya una unión antígeno-anticuerpo, algunas moléculas grandes tienen propiedades de ligarse a factores del complemento para iniciar los mismos efectos de la vía clásica (Abbas, Lichtman, & Pillai, 1991).

En cuanto a los Eosinófilos, su función no está dilucidada, ya que no son eficientes para atraer heterófilos al sitio de lesión. Sin embargo, están presentes en la dermatitis idiopática. En la reacción inmunológica no se encuentran eosinófilos indicando que las aves no reaccionan de la misma forma al estímulo inmunológico que los mamíferos, de igual forma no son frecuentemente encontradas en inflamaciones parasitarias. Los Basófilos son similares a los de los mamíferos, su actividad tampoco es clara, pero parece ser similar a la de los mastocitos presentes en los tejidos, pueden aumentar en algunos tipos de parasitismo, en sus gránulos existe gran cantidad de histamina que puede ser liberada en reacciones alérgicas. Igual que los basófilos, los mastocitos actúan en la inmunidad al liberar histamina para generar vasodilatación y permitir la migración celular (Macari, Furlan, & Gonzales, 2002).

3.2. Impacto económico de las enfermedades en la avicultura

El sector avícola colombiano, tanto carne como huevos, está en constante crecimiento y evolución, así lo demuestran las cifras de la Federación Nacional de Avicultores de Colombia (Fenavi), que indican que para el 2017 el sector avícola tuvo un crecimiento del 6,4% en relación con el año 2016. Ya durante el 2018 la avicultura fue uno de los grandes protagonistas del crecimiento agropecuario del país, presentando un récord en la producción de huevo y de pollo, lo que significó un crecimiento del 4,5% en relación con el 2017.

Pese a que el incremento en la inflación afecta negativamente a los productores al disminuir sus ingresos, la avicultura se ha convertido en la piedra angular para impulsar la economía agropecuaria en el país, generar mejores condiciones de calidad para el campo y ofrecer mayor cantidad de oportunidades laborales. (FENAVI, 2018). De acuerdo con lo anterior, se entiende que es de suma importancia mantener bajo control la presentación de enfermedades infecciosas y conocer el estado actual de las mismas en la actualidad del país, ya que estas generan un gran impacto en la producción y, por lo tanto, en el crecimiento y desarrollo económico del sector.

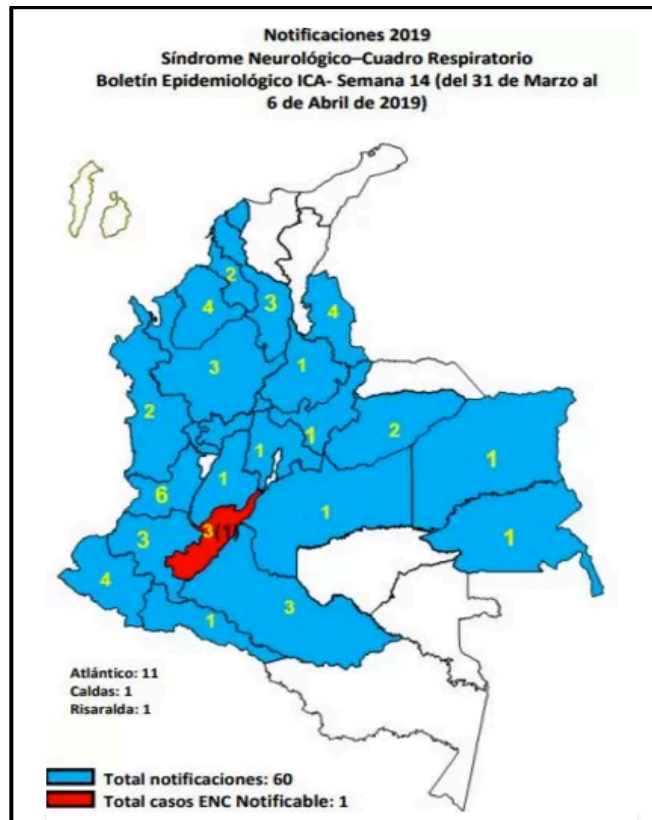


Ilustración 2 Mapa de las notificaciones de aves con cuadros clínicos respiratorios y/o nerviosos compatibles con enfermedades de control oficial en Colombia.

Recuperado de: <https://avicultura.info/fenavi-enfermedad-de-newcastle-en-colombia-e-influenza-aviar-en-el-mundo/>

Existe poca información sobre los impactos a nivel económico de las enfermedades infecciosas en las producciones avícolas de países en desarrollo (Jaimes, y otros, 2013). Sin embargo, este tipo de evaluaciones sobre pérdidas económicas generadas por las enfermedades en la avicultura (incluyendo vacunas y mortalidad) se han desarrollado en lugares como Estados Unidos, en donde las repercusiones negativas alcanzan hasta un 20 por ciento del valor bruto de la producción (VBP). Estudios de

la universidad de Georgia indican que por cada 1.000 dólares que se pierden por mortalidad, se pierden 2.000 dólares adicionales por los efectos negativos sobre la productividad (Bennett & Ijpelaar, 2003).

3.3. Enfermedad de Newcastle:

3.3.1. Etiología

Se han identificado nueve serotipos de paramixovirus (APMV-1 a APMV-9), de los cuales el APMV-1 (serotipo 1) es el agente causal de la ENC en aves de corral (Alexander, 2003). Los otros ocho serotipos del APMV (APMV-2 a APMV-9), se incluyeron en el género Avulavirus, subfamilia Paramyxovirinae, familia Paramyxoviridae, en la taxonomía actual. Los Avulavirus son de sentido negativo, de cadena simple y genomas de ARN no segmentados. Los viriones son aproximadamente esféricos, filamentosos, de 150 nm de diámetro o más. El genoma tiene una longitud de aproximadamente 15.2 kb que codifica seis proteínas estructurales y dos no estructurales (Abdisa & Tolera, 2017).

Así mismo los virus de ENC se agrupan en diferentes genotipos de clase I y II. Se han aislado dieciocho genotipos para la clase II y un genotipo para la clase I. Con esta clasificación genética los virus de clase I se han identificado en todo el mundo presentándose en aves silvestres generalmente en forma no virulenta. Por su parte los virus de clase II incluyen las cepas más virulentas, algunos virus no virulentos y las cepas utilizadas para la producción de vacunas relacionadas con aves de corral (Qin, y otros, 2007)

El virión de este agente está envuelto en una membrana de bicapa lipídica derivada de la membrana celular del huésped. Debajo de esta membrana lipídica existe una capa de matriz no glicosilada y relativamente hidrofóbica conocida como proteína de Matriz (M), que no sólo está asociada con la membrana, sino también con la superficie interior del agente. La proteína M se cree que interactúa con la nucleocápside (NP) en la cual hay integradas dos glicoproteínas diferentes, la hemaglutinina-neuraminidasa (HN) y las proteínas de fusión (F). Estas relativamente complejas proteínas interactúan entre sí involucrando la infectividad viral y virulencia del agente (Tirumurugaan, y otros, 2011).

NP es el principal regulador en la replicación del genoma viral. Se ha encontrado que NP es altamente inmunogénico, ya que induce respuestas de anticuerpos en pollos (Beard & Hanson, 1988). La hemaglutinina identificada con las proyecciones de la envoltura aglutina los glóbulos rojos del pollo y de algunas otras especies animales. Este evento puede ser inhibido específicamente por el anticuerpo homólogo en pruebas de HI. El virus se adsorbe a los receptores celulares del glóbulo rojo produciendo hemoaglutinación. Además, el virus

posee una hemolisina que le permite producir hemólisis en grado variable de los glóbulos rojos que hemaglutina (Moreno Chan, 1994). Por otro lado, la proteína de fusión (F) interviene en la unión entre la membrana del virus y la membrana celular de manera que el genoma del virus entre en la célula y la replicación pueda comenzar. La proteína F durante la replicación produce una glicoproteína precursora F0, que tiene que escindirse en los polipéptidos F1 y F2. Esta escisión de la molécula de F0 ha demostrado estar relacionada directamente con la virulencia de los virus in vivo (Abdisa & Tolera, 2017).

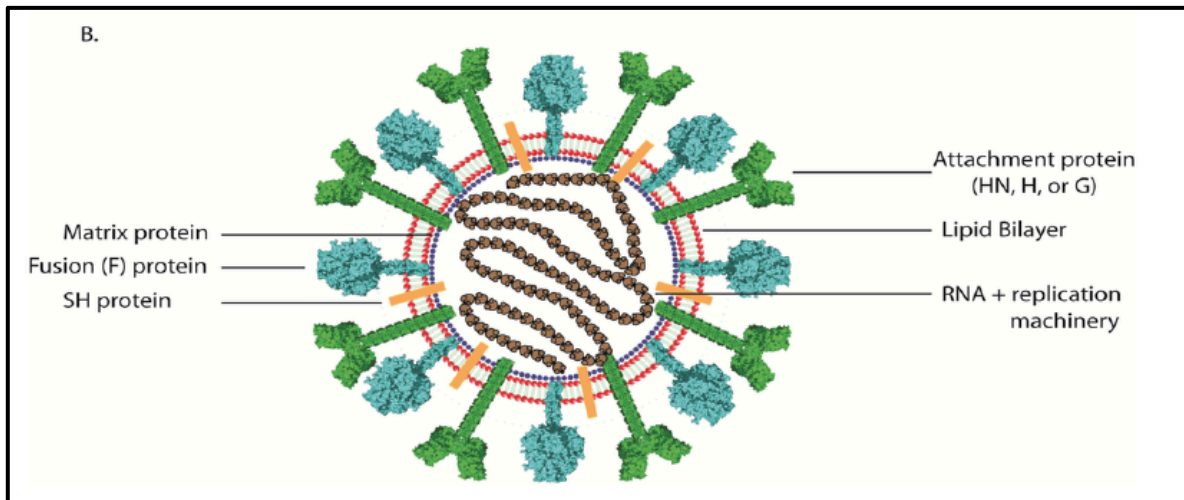


Ilustración 3 Estructura y proteínas virales del virus de ENC

(Abdisa & Tolera, 2017)

Se ha encontrado en general, que los desinfectantes químicos conocidos bien utilizados en los establecimientos avícolas inactivan al virus de Newcastle con cierta rapidez (Moreno Chan, 1994).

3.3.2 Distribución epidemiológica y transmisión

La enfermedad de Newcastle se ha detectado en todo el mundo, aunque actualmente está controlada en países como Canadá, Estados Unidos y parte de Europa occidental, con una continua presentación en partes de África, Asia y Sudamérica (OIE, 2011). La ENC es un problema serio para la producción avícola en muchos países, por lo que se han realizado numerosos esfuerzos para desarrollar estrategias de control y entender su epidemiología (Alexander, 2003). La ENC es una enfermedad de declaración obligatoria ante la Organización Mundial de Sanidad Animal. En Colombia desde junio de 1950 se considera una enfermedad endémica, presentando focos que alcanzan un total de 394 en todo el territorio nacional desde el 2006 hasta el 2009 (OIE, 2011).

Esta enfermedad es causada por un virus que afecta a aves domésticas, pavos, faisanes, palomas, codornices, gallinas de Guinea y numerosas especies de aves silvestres y en cautiverio. Los patos y los gansos son menos susceptibles al contagio (Geering & Forman, 1987). Las cepas del virus de Newcastle generalmente se clasifican en tres categorías, éstas están caracterizadas dependiendo de la velocidad en la que causan la muerte al animal: la primera como velogénicas (altamente virulenta), la segunda como mesogénicas (moderadamente virulenta) y por último lentogénicas (poca o sin virulencia) (Jindal, y otros, 2009). Las cepas velogénicas son endémicas en Asia, Medio Oriente, África, América Central, América del Sur y algunas regiones de México. En contraste este mismo tipo de cepas virales se encuentran en EE. UU y Canadá, sin embargo, solo están presentes en animales silvestres, ya que están libres de esas cepas en aves de corral y mantienen ese estatus con restricciones de importación y erradicación al eliminar aves de corral infectadas. Por otra parte, se reporta que las cepas lentogénicas se encuentran en aves de corral en todo el mundo (OIE, 2018).

La infección generalmente se transmite por contacto directo con aves enfermas o aves no afectadas que portan el virus. Incluso las aves vacunadas que están clínicamente sanas pueden excretar el virus virulento después de haber estado expuestas. A dos días después de la exposición al virus y a un día de mostrar los signos clínicos, empiezan a eliminar partículas virales durante varios días (Abdisa & Tolera, 2017). La infección se produce por inhalación o ingestión del virus o por contacto con membranas mucosas, especialmente la conjuntiva. Las aves infectadas comienzan a excretar el virus durante el período de incubación y continúan excretando el virus durante un tiempo variable pero limitado durante la convalecencia (Moreno Chan, 1994).

Por otra parte, existen varias formas de importación y diseminación del virus a otras granjas, como son las vacunas contaminadas con cepas virulentas de campo, aves importadas portadoras y eliminadoras asintomáticas del virus, alimentos contaminados con órganos o tejidos de pollos infectados, como las vísceras crudas, contaminación del agua y equipo avícola como las criadoras y la introducción del virus a una granja mediante el tránsito de pájaros, perros, personas y vehículos no controlados sanitariamente (Orsi, y otros, 2010). No hay pruebas de que el virus de Newcastle pueda ser transmitido a través del huevo y durante la incubación y es fácil comprender, que cualquier embrión que resultara infectado verticalmente con un virus Velogénico, moriría antes de su nacimiento (Moreno Chan, 1994).

3.3.3. Patogenia y periodo de incubación

La introducción e implantación primaria del virus en las vías respiratorias, es seguida por la replicación del virus en las células del epitelio mucoso del tracto respiratorio, desde donde

alcanza la circulación sanguínea, para un segundo ciclo de replicación en los órganos viscerales y una nueva liberación del virus en la corriente sanguínea, pasando en algunos casos al sistema nervioso central (Alexander, 2003). La diseminación del virus depende en gran medida de la virulencia de la cepa. Mientras que las cepas lentogénicas circulan con bajos títulos, las mesogénicas afectan los riñones, pulmones, bazo y la bolsa de Fabricio y las velogénicas se encuentran dentro de las 12-24 horas post infección en prácticamente todos los tejidos, con altos títulos en el timo y más bajos en los músculos y el cerebro (Kouwenhoven, 1993)

Los signos clínicos de la enfermedad y la eliminación del virus al medio se asocian a la segunda liberación del virus a la sangre y el curso clínico de la enfermedad estará determinado por los mecanismos de defensa que puedan desarrollarse en esta fase. En la exposición natural se ha observado un período de incubación que varía de 2 a 15 días con un promedio de 5 a 6 días (Beard & Hanson, 1988).

La producción de anticuerpos es rápida, tanto a nivel local como sistémica. En la respuesta sistémica aparecen en una primera fase los anticuerpos de tipo IgM seguido por los IgG (Kouwenhoven, 1993), los cuales son detectados entre los 4 a 6 días post infección y persisten por al menos 2 años (Murphy, Gibbs, Horzinek, & Studdert, 1999). El nivel de los títulos de anticuerpos depende de la cepa de virus que produce la infección, pero generalmente el nivel máximo de la respuesta se alcanza alrededor de la tercera o cuarta semana post infección, después de la cual los títulos comienzan a declinar si no se realizan reinmunizaciones (Alexander, 2003). Estos anticuerpos son transmitidos mediante el saco vitelino a la progenie y la protegen de la enfermedad en las primeras 3-4 semanas de vida sin interferir con el desarrollo de la respuesta local de anticuerpos (Kouwenhoven, 1993).

3.3.4. Signos clínicos

Las características clínicas de la ENC estarán determinadas por la interacción entre la susceptibilidad del hospedero y la patogenicidad de la cepa del virus infectante. Puede manifestarse con un cuadro clínico de muerte repentina, con un 80-90% de mortalidad, o con un cuadro de gravedad media y hasta de enfermedad subclínica (Erickson, Brugh, & Beard, 1980). La gravedad de una infección depende de factores como la virulencia y el tropismo del virus, la especie huésped, la edad del huésped, el estado inmunológico, otras enfermedades y las condiciones ambientales (Qin, y otros, 2007).

Los signos clínicos que podemos observar en casos de ENC son: dificultad respiratoria con estornudo, boqueo, descarga mucosa nasal, diarrea, disminución drástica de la postura, decaimiento, edema facial de la cabeza y barbillas, trastornos nerviosos con tortícolis,

opistótonos, incoordinación de movimientos, parálisis de piernas o alas y muerte (Moreno Chan, 1994).



Ilustración 4 Trastornos nerviosos y depresión vistos en la ENC.

Guía para la prevención, control y erradicación de la enfermedad de Newcastle, ICA (2009)

Otros síntomas generales que se pueden observar son diarrea verdosa, depresión e inapetencia, disminución parcial o total en la producción de huevos y un aumento de la producción de huevos deformados (Tirumurugaan, y otros, 2011). El signo clínico y el curso de la enfermedad se pueden agrupar en cuatro patotipos diferentes según las cepas del virus de la enfermedad de Newcastle (Abdisa & Tolera, 2017). Estos cuatro patotipos se enumeran a continuación:

1. Viscerotrópico velogénico: se puede observar una depresión obvia, inapetencia, una disminución sustancial en la producción de huevos, un aumento de la respiración, una diarrea profusa de color amarillo verdoso que conduce rápidamente a la deshidratación y el colapso, las cabezas hinchadas y las crestas cianóticas. La mortalidad puede ser de hasta el 90% y las aves infectadas generalmente mueren en uno o dos días. Las aves que sobreviven a la fase inicial a menudo desarrollan signos nerviosos (Abdisa & Tolera, 2017).
2. Neurotrópico velogénico: Depresión repentina, inapetencia y disminución de la producción de huevos se observan junto con la tos y otros signos del tracto respiratorio, seguidos de signos nerviosos en unos pocos días. La mortalidad suele ser de alrededor del 10-20% para las aves adultas, pero puede ser mayor para las aves jóvenes
3. Mesogénico: dominan la tos y otros signos de las vías respiratorias. Otros síntomas son depresión, pérdida de peso y disminución de la producción de huevos durante hasta tres semanas. Los signos del sistema nervioso pueden desarrollarse tarde en la enfermedad. La mortalidad ronda el 10%.

4. Lentogénicos: a menudo son subclínicos, pero con signos respiratorios leves y una pequeña caída en la producción de huevos. No hay signos nerviosos y la mortalidad suele ser despreciable (Abdisa & Tolera, 2017).

3.3.5. Patología

Al igual que con los signos clínicos, las lesiones y los órganos afectados en las aves infectadas con el virus de la enfermedad de Newcastle dependen de la cepa y el patotipo del virus infeccioso, además del huésped y de todos los demás factores que pueden afectar la gravedad de la enfermedad (Alexander, 2003). De acuerdo con el patotipo es frecuente encontrar los siguientes grupos de lesiones:

1. Cepas velogénicas viscerotrópicas: Hemorragias petequiales y/o equimóticas en el proventrículo, el intestino y las tonsilas cecales, que caracterizan a la infección aguda y fatal por estas cepas.
2. Cepas velogénicas neurotrópicas: Congestión de la mucosa traqueal, traqueítis catarral con exudado mucoso tanto en el lumen de la tráquea como en los pasajes nasales. Los signos neurológicos e historia de alta mortalidad, pero sin lesiones intestinales, es un cuadro patológico bastante común. En general, las lesiones macroscópicas no se observan en el sistema nervioso central de las aves infectadas con ENC, independientemente del patotipo (McFerran & McCracken, 1988).
3. Cepas mesogénicas: Traqueítis catarral aguda asociada a signos nerviosos con baja mortalidad.
4. Cepas lentogénicas: Las cepas Lentogénicas producen sólo una débil inflamación catarral de la mucosa traqueal, o causan una infección respiratoria inaparente. (Moreno Chan, 1994)



Ilustración 5 Comparación de proventrículo y molleja de un animal sano y uno con ENC clínica

Guía para la prevención, control y erradicación de la enfermedad de Newcastle, ICA (2009)

Histológicamente en los tejidos del aparato respiratorio, los cambios en el epitelio mucoso traqueal se manifiestan por congestión, edema e infiltración abundante de células linfoides. El exudado inflamatorio en el lumen traqueal contiene además abundantes fagocitos. Los cambios histológicos en el pulmón son proliferativos y exudativos y las membranas de los sacos aéreos pueden experimentar engrosamiento y opacidad, debido a la proliferación del tejido conectivo (Alexander, 2003). En el sistema nervioso central, generalmente se detecta degeneración neuronal, infiltración linfocitaria perivascular e hipertrofia de las células endoteliales. Estas lesiones parecen estar bien distribuidas en la médula, cerebro medio, y el cerebelo (Moreno Chan, 1994).

3.3.6. Diagnóstico

Para generar un diagnóstico preciso de la enfermedad, se deberá tener en cuenta los porcentajes de morbilidad y mortalidad, los signos y lesiones macroscópicas encontrados al realizar la necropsia. El diagnóstico basado en estudios serológicos es un método eficaz, pero requiere de un análisis cuidadoso para evitar dar resultados falsos negativos, ya que al inicio de la infección los títulos se pueden encontrar dentro de los rangos de normalidad. Entre mayor sea el número de sueros a examinar más eficiente será la serología para el diagnóstico (OIE, 2018). También es importante valorar comparativamente los títulos de anticuerpos de la fase inicial y/o aguda de la enfermedad, con los títulos de anticuerpos de la fase convaleciente, de forma que se pueda inferir si existió o no la infección activa del virus. La

identificación y evaluación de los niveles de anticuerpos se puede efectuar con las pruebas de laboratorio de IH, SN o ELISA (Moreno Chan, 1994).

Las técnicas de genética molecular como la hibridación de ácidos nucleicos, que en sus diferentes modalidades, tienen la capacidad de distinguir, con gran especificidad, sensibilidad y ahorro de tiempo, las distintas cepas de virus, en sus tipos, subtipos, patotipos y pueden aplicarse, a muestras clínicas de distinta naturaleza; así, se han venido desarrollando sondas de DNA y RNA marcadas con isótopos radiactivos o con sustancias químicas luminiscentes, capaces de identificar secuencias específicas en genes o en porciones de genes, de agentes infecciosos como el virus de la ENC, mediante el uso de técnicas de hibridación (Tirumurugaan, y otros, 2011).

Es importante realizar el aislamiento del agente en huevos embrionados SPF, así como la caracterización por medio de pruebas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR por su sigla de inglés Reverse transcription polymerase chain reaction), la secuenciación de nucleótidos y el test de patogenicidad intracerebral, intravenosa e índice de mortalidad media embrionaria (Rui, y otros, 2010)

Por lo general la RT-PCR ha sido la técnica más utilizada para amplificar una porción específica del genoma que permita reconocer las diferentes cepas de NDV proporcionando la posibilidad de generar un valor añadido respecto a la caracterización molecular de los agentes. Con esta técnica se ha planteado la amplificación de regiones como la del gen F en la cual está presente el sitio de escisión de F0 de modo que los productos resultantes pueden ser utilizado para evaluar la virulencia del agente (Miller, y otros, 2015). En los últimos años, las técnicas en tiempo real (qRT-PCR) han llegado a su apogeo en el diagnóstico de ND, en especial luego de la presentación de algunos brotes en EE. UU. en los cuales la qRT-PCR mostró una sensibilidad del 95% en comparación con el aislamiento del virus por más de 1.400 ejemplares (Alexander & Jones, 2008)

Otras pruebas de laboratorio que pueden utilizarse para el diagnóstico de la enfermedad son: Seroneutralización de placas, Inmunodifusión, Fijación del Complemento e Inmunofluorescencia, que podrían satisfacer necesidades muy específicas (Moreno Chan, 1994).

Las enfermedades que tienen algún signo clínico similar con la enfermedad de Newcastle son las siguientes: cólera aviar, influenza aviar altamente patógena, laringotraqueitis, viruela aviar (forma diftérica), psitacosis (aves psitácidas), micoplasmosis, bronquitis infecciosa, aspergilosis, también errores de manejo tales como privación de agua, falta de alimento o deficiencia nutricional y mala ventilación (OIE, 2018). Sin embargo, los diagnósticos diferenciales principales son aquellas infecciones virales que también afectan al sistema

respiratorio como la Bronquitis Infecciosa, Laringotraqueítis, Enfermedad Respiratoria Crónica y Coriza Infecciosa (Miller, y otros, 2015).

3.3.7. Prevención y control

Uno de los objetivos del control es proteger a las aves de la infección con el Virus de la ENC y por otra parte reducir el número de aves susceptibles mediante la aplicación de la vacunación (Alexander, 2003). Para el control, se tiene en cuenta como factor primordial la diseminación de la enfermedad y, en consecuencia, se adoptan disposiciones a nivel nacional e internacional que regulan el comercio de los productos avícolas, así como, de aves vivas. Sin embargo, los factores más importantes en prevenir la introducción de la enfermedad y su diseminación en presencia de un brote son las condiciones bajo las cuales las aves son criadas y el grado de bioseguridad practicado en las explotaciones avícolas (Beard & Hanson, 1988).

La bioseguridad es parte indispensable de los procedimientos de las buenas prácticas de producción, por ser la mejor defensa contra las enfermedades. Sólo la prevención permite lograr que el ave manifieste su potencial biológico productivo, por lo tanto, el desarrollo y cumplimiento de un extenso programa de bioseguridad constituye uno de los factores más importantes para reducir las pérdidas (FAO, 2004).

Las medidas de bioseguridad incluyen casas a prueba de aves, suministros de alimentación y agua, minimizando los viajes dentro y fuera de las instalaciones, desinfectando los vehículos y equipos que ingresan a la granja. Las plagas como los insectos y ratones también deben ser controlados. Si es posible, los empleados deben ducharse y ponerse ropa especial antes de ingresar a la granja avícola (Abdisa & Tolera, 2017).

Los enfoques generales para el control de la enfermedad de Newcastle son la higiene y la vacunación. De manera realista, la vacunación contra la enfermedad de Newcastle generalmente protege al ave de las consecuencias más graves de la enfermedad, pero la replicación y la propagación del virus aún pueden ocurrir (Guittet, Le Coq, Morin, Jestin, & Bennejean, 1993). Las vacunas contra las ENC están disponibles en forma “viva” o “muerta”: las vacunas vivas son frágiles y tienen reglas de uso muy precisas, que requieren una cadena de frío hasta el punto de aplicación al ave. Su efectividad se reduce si hay anticuerpos residuales en los pollos. La respuesta inmunitaria aumenta a medida que aumenta la patogenicidad de la vacuna viva (Reeve, Alexander, & Allan, 1974). Por lo tanto, para obtener el nivel de protección deseado sin una reacción grave, se necesitan programas de vacunación que involucren el uso secuencial de virus progresivamente más virulentos o virus vivos seguidos de una vacuna inactivada, las cuales proporcionan una buena inmunidad, pero requieren una preparación con una vacuna viva para obtener mejores resultados, a menos que una infección natural ya haya servido para este propósito (Abdisa & Tolera, 2017).

Los títulos de anticuerpos de parvadas reproductoras también son importantes para mantener los títulos de anticuerpos maternos de la progenie. Estos anticuerpos maternos protegen a los pollos de la enfermedad durante la primera semana de vida (Guittet, Le Coq, Morin, Jestin, & Bennejean, 1993).

3.4. Bronquitis infecciosa aviar:

3.4.1. Etiología

La BI es una enfermedad originada por un virus ARN que pertenece a la familia Coronaviridae del género Gammacoronavirus, en el cual únicamente se encuentran aquellos que afectan a las aves. En cuanto a su morfología, su estructura es helicoidal, la envoltura que lo recubre posee espículas que a la vista dan la impresión de una corona solar, de allí proviene el nombre de la familia (Panisello & Giner, 2010). El virus de la BIA contiene cuatro proteínas estructurales, las proteínas de la espícula (S), la de membrana (M), la nucleocápside (N) y pequeñas proteínas de membrana (E). La glicoproteína S tiene un peso molecular de 150-180 KDa, posee 3 dominios estructurales, un dominio externo que se subdivide en dos subdominios S1 y S2, (constituyen la corona que da nombre a este tipo de virus cuando se visualizan por microscopía electrónica), responsable de la unión del virus a moléculas receptoras sobre las células hospederas y la fusión de la membrana del virión con membranas de la célula hospedera, para liberar el genoma viral dentro de la célula (Acevedo, 2017). La subunidad S1 está relacionada con la infectividad, la actividad hemaglutinante, virus neutralización y lleva secuencias serotipo-específicas, mientras que la subunidad S2 es responsable de la fusión de la membrana (Padilha de Fraga, y otros, 2018).

La glicoproteína M es altamente hidrofóbica y variable, se encuentra asociada a la proteína N para formar parte de la nucleocápside y en la envoltura, se asocia además con la proteína E de 12 KDa. Esta es imprescindible para el ensamblaje de la partícula viral y su liberación por budding a través de las membranas del complejo de Golgi. La proteína N es una fosfoproteína de 50-60 KDa posee 3 dominios estructurales relativamente conservados, se fosforila rápidamente en el citosol una vez sintetizada y juega un papel en la replicación del ARN viral, la transcripción, ensamblaje y en la inmunidad a la infección. La proteína E juega un papel esencial en el ensamblaje del virión (Lai & Cavanagh, 1997).

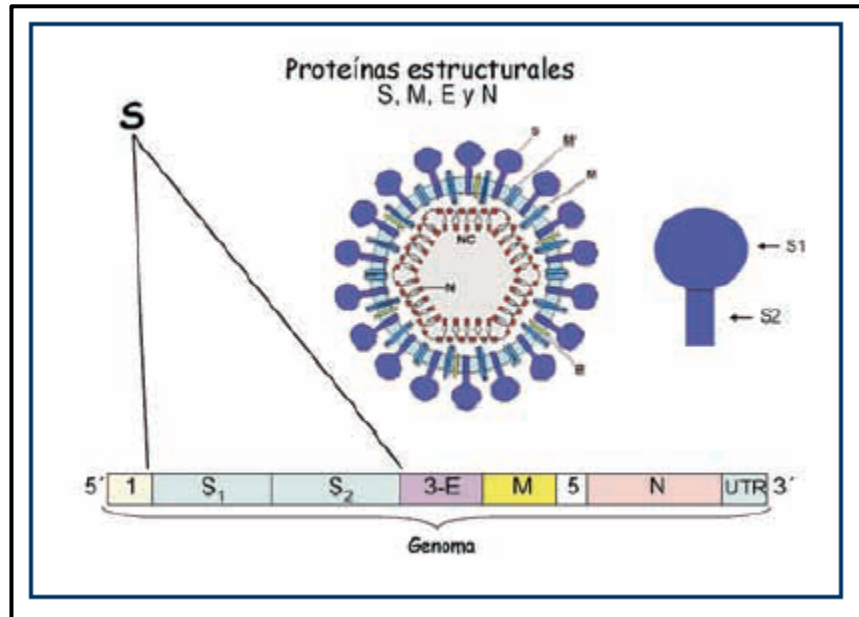


Ilustración 6 Caracterización del virus de BI y sus proteínas estructurales

(Panisello & Giner, 2010)

La recombinación del ARN es un fenómeno que sucede de manera análoga a la replicación del ARN viral y le proporciona a los virus resultantes un mecanismo de intercambio genético que aumenta su diversidad (Pradhan, y otros, 2014). La ARN polimerasa viral, a partir de una cadena naciente de ARN unida, se disocia de su molde y reanuda la síntesis una vez que se ha unido en otra parte del mismo, o en otro molde, lo que proporciona una progenie viral con secuencias de dos genomas parentales diferentes, por lo tanto, al igual que otros virus ARN, que emplean ARN polimerasas, los coronavirus presentan una elevada tasa de mutaciones. Además, estos virus muestran elevada frecuencia de recombinación lo que ha sido demostrado para los virus representativos de todos los grupos del género (Ignjatovic & Sapats, 2000).

3.4.2. Distribución epidemiológica y transmisión

La distribución de esta enfermedad es a nivel mundial, teniendo mayor influencia sobre sistemas intensivos (Liu & Kong, 2004). La enfermedad se reportó por primera vez a principios de la década de 1930, y desde entonces se ha documentado en todos los países con una industria avícola intensiva (Ignjatovic & Sapats, 2000). El virus es altamente infeccioso, se disemina mediante aerosoles, directamente por el contacto de pollo a pollo e indirectamente a través de medios mecánicos (equipamiento contaminado, vehículos o materiales del embalaje de los huevos, entre otros elementos). Varios serotipos pueden co-circular en una región (Capua, y otros, 1999).

En las zonas más frías, la incidencia suele ser mayor en los meses de invierno debido al cierre de las casas de aves, lo que compromete la ventilación. Muchos episodios son causados por una vacunación deficiente o inadecuada (Ignjatovic & Sapats, 2000).

El período de incubación de la enfermedad es entre las 18-36 horas postinfección dependiendo de la dosis y ruta de inoculación. Los pollos de todas las edades son susceptibles pero la enfermedad es más severa en los pollitos causando mortalidad elevada (Cavanagh & Naqi, 2003). Con el incremento de la edad los pollos se hacen más resistentes a los efectos nefropatogénicos, lesiones en el oviducto y la mortalidad debido a la infección (Capua, y otros, 1999).

Factores que predisponen al desarrollo de la enfermedad son, la incidencia de infecciones intercurrentes como las de la Enfermedad de Gumboro y de la Enfermedad de Marek, que son producidas por agentes inmunosupresores y la presencia de agentes bacterianos complicantes como *E. coli* y micoplasmas como *M. gallisepticum* y *M. sinoviae* (Moreno Chan, 1994).

El virus se propaga horizontalmente por los aerosoles, la ingestión de alimentos o agua que se encuentran contaminados con exudado traqueo bronquial y heces de aves infectadas; el personal, ropa, calzado, equipo y utensilios son otra fuente de transmisión indirecta entre galpones (Panisello & Giner, 2010). Estudios sugieren que esta enfermedad puede ser transmitida verticalmente, se ha aislado el virus en pollitos de un día de nacido bajo condiciones sanitarias óptimas (Ignjatovic & Sapats, 2000).

3.4.3. Patogenia y periodos de incubación

Al igual que otras enfermedades, su nivel de virulencia va a depender del estado inmunológico de la parvada y el nivel de virulencia de este patógeno, en condiciones naturales el virus desarrolla los primeros signos respiratorios alrededor de 36 horas post infección (Panisello & Giner, 2010).

El virus ingresa principalmente por vía oro nasal y se aloja en células del tracto respiratorio superior (células ciliadas y secretoras de moco), es común que esta infección sea seguida por agentes de tipo bacteriano que empeoran el cuadro del individuo, estas infecciones secundarias son aquellas que generan la debilidad generalizada y la mortalidad en las aves (Córdoba , Vera , Correa, & Ramírez, 2015). El virus además de multiplicarse en tejidos como mucosa nasal, tráquea, pulmones y sacos aéreos tiene la habilidad de viajar y colonizar otro tipo de superficies epiteliales como lo son riñones, oviducto, testículos, además de partes del sistema digestivo como

proventrículo, intestino, bolsa de Fabricio, recto, cloaca, etc., llegando a desarrollar otro tipo de sintomatología como la disminución en la postura y los huevos de mala calidad, además permitiendo la eliminación de este por medio de las heces (Panisello & Giner, 2010)

Las células dianas principales para el virus causante de la BI son las células epiteliales ciliadas del tracto respiratorio superior, las células epiteliales en el tracto reproductivo femenino y las células epiteliales tubulares en el riñón. El virus inicialmente infecta y se replica en el tracto respiratorio superior, con destrucción de las células protectoras que cubren la tráquea (Schalk & Hawn, 1951). La replicación en la glándula de Harder, un pequeño órgano linfoide, afecta la producción de anticuerpos locales encargados de proteger la mucosa óculo-nasal. Algunas cepas de virales se replican también en células distintas a las del aparato respiratorio, como las del riñón y de la bolsa de Fabricio, donde persisten más tiempo que en la tráquea o el pulmón (Moreno Chan, 1994).

La infección es comúnmente seguida por infecciones bacterianas secundarias, las cuales pueden ser la principal causa de la enfermedad debilitante, incluyendo la mortalidad (Acevedo, 2017). Comúnmente la infección de los tejidos entéricos no se manifiesta clínicamente. La infección del oviducto se asocia con la disminución en la producción de huevos. El virus puede también replicarse en los testículos (Boltz, Nakai, & Bahra, 2004)

El curso de la infección en los pollos jóvenes es entre siete a 21 días, aunque el virus puede establecer infecciones persistentes que facilitan una diseminación del virus, el cual se excreta en las heces durante varios meses después de la exposición inicial (Acevedo, 2017). El título viral alcanza su valor máximo en la cavidad nasal y en la tráquea tres días después de la infección y se mantienen en estos valores de dos a cinco días post infección. Se encuentran títulos de virus similares en los pulmones y los sacos aéreos (Moreno Chan, 1994). El virus puede establecer infecciones persistentes en los pollos, lo que provoca una diseminación del virus en las heces durante varios meses después de la exposición inicial (Ignjatovic & Sapats, 2000).

3.4.4. Signos clínicos

Los signos clínicos característicos son tos, estornudos, estertores traqueales, ojos acuosos, letargo y en los pollos, especialmente los jóvenes, se presentan descargas nasales. Los pollos parecen deprimidos, pueden estar agrupados bajo una fuente de calor y el consumo de alimentos y ganancia de peso son significativamente reducidos (Cavanagh & Naqi, 2003). En los pollos mayores de 6 semanas de edad y en aves adultas los signos clínicos son similares

a los señalados pero las descargas nasales no ocurren tan frecuentemente y la enfermedad puede no ser advertida a menos que las aves sean examinadas cuidadosamente (Acevedo, 2017).



Ilustración 7 Signos respiratorios (cabeza hinchada, secreción nasal) vistos en BI

(Córdoba , Vera , Correa, & Ramírez, 2015)

Los pollos jóvenes pueden morir directamente de la infección por el virus, pero un gran número muere debido a infecciones bacterianas secundarias (Cavanagh & Naqi, 2003). Las aves jóvenes y maduras sufren menos de la infección viral, aunque las consecuencias económicas pueden ser altas. La infección en las aves de engorde resulta en retardo del crecimiento. En ponedoras, disminución en la producción y calidad de los huevos (Capua, y otros, 1999).

En los pollos pesados infectados con virus nefropatogénicos hay una recuperación de la fase respiratoria, pero comienzan a mostrar signos de depresión, plumas erizadas y aumenta el consumo de agua (Ignjatovic & Sapats, 2000). En gallinas ponedoras disminuye la producción con cambios en la forma, pigmentación y calidad de los huevos en presencia o no de signos respiratorios. La severidad de la producción declina y puede variar con el período de la puesta y con la cepa de virus (Boltz, Nakai, & Bahra, 2004).

La calidad externa del huevo se afecta, y algunas veces se producen huevos con cascarones muy delgados, de formas y rugosos. Las irregularidades del cascarón pueden persistir por períodos indefinidos (Moreno Chan, 1994). La calidad interna del huevo también es afectada.

La albúmina, puede ser acuosa y sin una demarcación definida entre la albúmina gruesa y la delgada, en comparación con la albúmina de los huevos frescos normales. El efecto negativo en la calidad interna del huevo, puede hacerse aparente hasta 2 semanas después de que los signos clínicos han desaparecido (Boltz, Nakai, & Bahra, 2004).



Ilustración 8 Alteración en la cascara de huevos producidos por animales con BI

(Panisello & Giner, 2010)

3.4.5. Patología

Las lesiones asociadas con la BI incluyen una moderada inflamación del tracto respiratorio superior. Las aves afectadas muestran una inflamación de cornetes, senos nasales y tráquea. Generalmente, esta inflamación es relativamente suave (mucoide) comparada con otras enfermedades como la laringotraqueitis o la coriza infeccioso (Acevedo, 2017). Los sacos aéreos pueden estar húmedos, espumosos u opacos, pueden contener material caseoso amarillento y se puede encontrar un tapón caseoso en la tráquea. Las infecciones nefropáticas producen riñones hinchados y sin brillo con los túbulos distendidos y uréteres con cristales de uratos (Ignjatovic & Sapats, 2000).

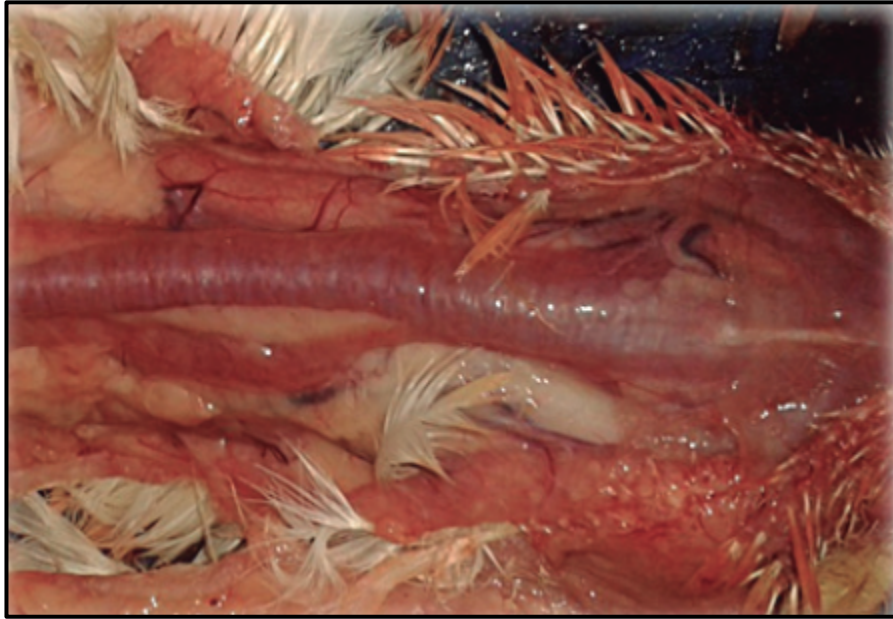


Ilustración 9 Inflamación y congestión de la tráquea de animales con BI

(Córdoba , Vera , Correa, & Ramírez, 2015)

En las aves ponedoras puede encontrarse material fluido de la yema en cavidad abdominal. Esta última lesión no es específica y puede encontrarse en otras enfermedades que causan baja en la producción de huevo (Moreno Chan, 1994). Lesiones permanentes en el oviducto pueden ser una consecuencia de infección con el virus de la BIA en pollitos de 1 día de edad y son una causa de la reducida producción de huevos (Boltz, Nakai, & Bahra, 2004).

Las lesiones histopatológicas del tracto respiratorio consisten en infiltración celular y edema de la mucosa y submucosa de la tráquea, congestión vascular e hiperplasia del epitelio mucoso traqueal, pudiendo además haber hemorragia en la submucosa. Generalmente no hay interrupción en la continuidad del epitelio de la tráquea y el lumen puede contener exudado mucoso, frecuentemente con elementos celulares inflamatorios (Cavanagh & Naqi, 2003).

Microscópicamente, el tamaño de las células del epitelio de los oviductos no sufre una reducción notable, volviéndose cuboidales con alguna pérdida de los cilios. En la lámina propia y en el estroma intertubular de los oviductos, se observan focos de infiltración celular linfocitaria (Moreno Chan, 1994).



Ilustración 10 Comparación del oviducto de un animal sano y uno con BI

(Panisello & Giner, 2010)

3.4.6. Diagnóstico

Los métodos diagnósticos de la enfermedad se basan en herramientas como la historia clínica y necropsias que pueden guiar más certeramente el diagnóstico, la utilización de técnicas más precisas permite dar un resultado más certero frente al patógeno que se está combatiendo como examinar si los niveles de los títulos de anticuerpos se encuentran elevados; histopatología o el RT-PCR que permite identificar el antígeno. En casos como estos, las pruebas de ELISA no permiten diferenciar entre los diferentes serotipos del virus, caso contrario sucede mediante pruebas como HI (Jaimes, y otros, 2013).

El aislamiento viral se realiza a partir de aves enfermas en la fase aguda de la enfermedad, de las que, de una suspensión del exudado mucoso traqueal, o de tráquea y/o pulmón macerados y libres de bacterias, se inocula en dosis de 0.2 ml, en el saco corion alantoideo de embriones de pollo (Moreno Chan, 1994). Se requieren varios pases sucesivos para el aislamiento de este, el cual no siempre es exitoso, además de que las lesiones ocasionadas son indistinguibles a las causadas por adenovirus aviares del grupo 1 (Naqi, 1990).

Los ensayos serológicos más utilizados en el diagnóstico de la BI son la virus-neutralización (VN), la inmunodifusión en gel de agarosa (AGID) y las pruebas ELISA (Pradhan, y otros, 2014). Cada uno de estos ensayos tiene sus ventajas y desventajas en términos de especificidad, sensibilidad y costo. En general, para los ensayos de rutina la VN es demasiado cara e impracticable y los ensayos de AGID

tienen baja sensibilidad (Acevedo, 2017). Los ELISA son los más empleados para la serología de rutina al posibilitar el monitoreo general del VBI, pues permiten detectar respuesta de anticuerpos a todos los serotipos (Moreno Chan, 1994).

En la actualidad las técnicas de amplificación por PCR en tiempo real (rRT-PCR) para la detección y cuantificación del virus de la BI constituyen los de elección para su empleo como diagnóstico de primera línea (Cavanagh & Naqi, 2003). Estos ensayos ofrecen varias ventajas respecto a los ensayos de PCR convencionales. Además del relativamente corto tiempo de corrida de la reacción de amplificación, al final de la cual los resultados se obtienen directamente sin necesidad de una electroforesis adicional o visualización de la reacción de amplificación, es un ensayo altamente sensible, específico y reproducible. Se pueden usar para la cuantificación relativa o absoluta del ARN viral y reduce el riesgo de contaminaciones cruzadas, estas últimas generadas fundamentalmente por la manipulación de productos amplificados (Niesters, 2004).

Los signos clínicos y las lesiones para el caso de la BI no son patognomónicos. Otras enfermedades respiratorias, como la infección por influenza aviar (IA), la enfermedad de Newcastle (ENC), la infección por metapneumovirus aviar, la laringotraqueitis infecciosa, micoplasmosis y coriza infecciosa aviar en algunas etapas cursan con un cuadro clínico lesional similar (Cavanagh & Naqi, 2003). Lesiones muy similares en el riñón pueden ser causadas por diferentes etiologías, incluyendo otros virus como el virus de la enfermedad de Gumboro, toxinas y deshidratación. En las gallinas ponedoras también se observa una disminución en la producción de huevos con el Síndrome de Caída de la Puesta y en infecciones por metapneumovirus aviar (Acevedo, 2017).

3.4.7. Prevención y control

El control de la BI se ha intentado desde la década de los años 50 con el empleo de vacunas vivas atenuadas e inactivadas (Naqi, 1990). La selección de la vacuna para el establecimiento de un programa eficiente de inmunización depende de la identificación de los serotipos presentes en la región y de la protección cruzada que exista entre las vacunas disponibles y los virus de campo. Es importante la identificación de los serotipos involucrados en los brotes de campo en la región para el control de la BI (OIE, 2008). Por otra parte, si con frecuencia se aísla un serotipo diferente a los que contienen las vacunas disponibles en el mercado, se recomienda hacer las pruebas de protección cruzada contra el serotipo en cuestión y las vacunas con los serotipos disponibles en busca del mejor porcentaje de protección ya que la protección cruzada entre los diferentes serotipos es mínima (Pradhan, y otros, 2014).

Las vacunas vivas, atenuadas por pases seriados en embrión de pollo o por tratamiento al calor confieren mejor inmunidad local del tracto respiratorio que las vacunas inactivadas (OIE, 2008). Estas vacunas vivas son usualmente aplicadas a los pollos de engorde al día de edad sin embargo se ha demostrado que los pollos no son uniformes en su respuesta a la vacunación con el virus de la BI (Cavanagh & Naqi, 2003). En pollos de engorde, los cuales son procesados con tan solo 6 semanas de edad, pueden ser revacunados si es muy problemática la situación de la BIA en un área determinada además de que la eficacia de la vacunación con vacunas vivas varía entre líneas de pollos y afecta la eficacia de la respuesta inmune (Cook, y otros, 2001)

La prevención y el control de la BI depende de otros factores además de la vacunación, dentro de los que se destacan: las buenas prácticas de manejo de las aves, el control de factores inmunodepresores y de una eficiente bioseguridad (Moreno Chan, 1994). El manejo ideal incluye el estricto aislamiento y la repoblación con pollitos de un día de edad, seguido de la limpieza y la desinfección de las naves y se deben ventilar con aire filtrado bajo presión positiva. En la práctica, lo planteado previamente resulta muy difícil de lograr, ya que los métodos comunes de producción incluyen múltiples edades en una nave o múltiples edades en un campo, en un área avícola de alta densidad (Acevedo, 2017).

3.5. Antecedentes

Se han realizado estudios en diferentes lugares, por ejemplo en la región sur del Ecuador donde hay importantes poblaciones de gallinas criollas que se evaluaron para determinar la prevalencia del virus de la ENC mediante la técnica ELISA, los resultados demostraron una prevalencia de 9,85 % del virus, a pesar de que estas aves no tenían antecedentes de vacunación contra la enfermedad (Villacís Rivas, Escudero, Cueva, & Luzuriaga, 2015). Cepas velogénicas son notificadas constantemente en países como Vietnam, Indonesia, Malasia, Camboya e Israel, donde el virus no sólo afecta a las aves de producción, sino que especies como los pingüinos africanos y lechuzas presentaron un alto grado de mortalidad y morbilidad en el año 2011 y al realizar las pruebas respectivas, hallaron virus de alta virulencia de Newcastle (Das & Kumar, 2015).

En Colombia, un estudio similar determinó la presencia de anticuerpos para esta enfermedad en los gallos de pelea del municipio de Saboya, Boyacá, utilizando la técnica de Inhibición de la Hemaglutinación. Se encontró una prevalencia del 96.4%, con 79.7 % en machos y 20,3 % en las hembras (Briceño, Rodríguez, & Rodríguez, 2012). Por otro lado, en Bucaramanga se determinó serológicamente la presencia de anticuerpos contra la ENC y la BI también en aves de combate. Los sueros se sometieron a la prueba de inhibición de la hemaglutinación (HI) y a la prueba de ELISA indirecta siendo la seroprevalencia del 36,4% para ENC y del

47,1% para BI (Díaz, Ríos, & Moreno, 2005).

Estudios han demostrado que en Cundinamarca el 85.72% de las granjas avícolas muestra positividad a la Bronquitis Infecciosa ya sea dada por la presencia del virus vacunal o de campo, en este departamento la totalidad de las granjas muestreadas de la población habían presentado antecedentes de problemas respiratorios que coinciden con la sintomatología de la enfermedad (Córdoba , Vera , Correa, & Ramírez, 2015), por esto se hace importante lograr identificar mediante monitoreo serológico, que cantidad de títulos corresponde a la presentación clínica de la enfermedad.

Sin embargo hay pocos reportes de trabajo que analicen la seroprevalencia de estas enfermedades a nivel industrial, teniendo en cuenta la importancia sanitaria y económica que representa mantener un control adecuado sobre estas, es fundamental lograr determinar un sistema que pueda evaluar la efectividad del plan vacunal de las granjas y que permita hacer notar alteraciones o anormalidades en la seroreactividad de los animales, por lo tanto este estudio pretende direccionar la realidad de un grupo de granjas ubicadas en el departamento de Cundinamarca utilizando datos históricos de serología frente a las enfermedades de Newcastle y Bronquitis infecciosa, recopilados desde el año 2014 hasta el año 2018.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo retrospectivo en el cual se evidenció el comportamiento serológico frente a ENC y BI que logró determinar la posible casuística de estas enfermedades dentro de la empresa productora. Para ello, el estudio se basa en los resultados del monitoreo sanitario realizado con el fin de evaluar los títulos de anticuerpos, los cuales fueron obtenidos y recopilados por el Laboratorio IDC (Investigación, Diagnóstico y Control de Calidad) S.A.S desde el año 2014 hasta el año 2018. Con estos resultados históricos se puede determinar el promedio de títulos de anticuerpos para cada caso de forma que se logre establecer la cantidad de títulos normales para el plan vacunal empleado por la empresa, el cual es el siguiente:

- Nobilis Ma 5 + Clone 30, MSD®, Registro ICA N° 3650-DB: Bronquitis infecciosa cepa Massachusetts (cepa Ma5) + Cepa viva lentogénica purificada clone 30 tipo La Sota para prevención de Enfermedad de Newcastle, al día de edad en incubadora vía ocular.
- Transmune, IBD, CEVA®, Registro ICA N° 6550: Complejo antígeno-anticuerpo, subcutáneo al día de edad en incubadora.
- Innofusion, ND, MSD®, Registro ICA N° 9133: Enfermedad de Newcastle, vacuna recombinante, subcutáneo al día de edad en incubadora

4.1. Población y muestra

El método por el cual se obtuvieron los resultados durante el periodo de tiempo previo al estudio fue la utilización de muestras de suero de pollo de entre 4 y 6 semanas de edad (28 a 45 días) ya que en esta edad es muy importante evaluar los protocolos de vacunación para posteriores lotes. Estos sueros se obtuvieron tras múltiples visitas a las diferentes granjas, las cuales fueron 11 (A-K). Los animales se seleccionaban de forma aleatoria de un galpón específico en el cual se encontraban animales de la misma edad y dentro del rango escogido para el estudio. El número de sueros por montaje para cada granja era entre 15 y 24, los cuales variaban según la disponibilidad económica del cliente pero que en todos los casos eran suficientes y correspondían a un volumen significativo para el resto de la población. Las muestras de sangre se tomaban de la vena braquial con jeringas estériles de 3 a 6 mililitros. Otros materiales implementados para el proceso de muestreo fueron guantes estériles, agujas de calibre 20 a 25, gasas estériles y alcohol, los cuales fueron proporcionados por el laboratorio.

Los resultados obtenidos correspondían a cada lote de pollos en cada una de las granjas (A-K) ubicadas en los municipios de Villeta, Puente Quetame, Nocaima, Sasaima, Guayabetal y San Antonio del Tequendama.



Ilustración 11 Mapa de Cundinamarca y regiones señaladas que son objeto de estudio

Recuperado de: <http://www.radiosantafe.com/2011/10/31/elecciones-en-cundinamarca-alcaldes-electos/mapa-cundinamarca-3/>

Tabla 2 Número de muestras analizadas para BI por granja durante el periodo 2014-2018

GRANJA	2014	2015	2016	2017	2018	TOTAL
Granja A	0	0	0	19	38	57
Granja B	0	0	45	0	19	64
Granja C	0	0	60	0	0	60
Granja D	0	0	30	24	0	54
Granja E	15	107	60	0	57	239
Granja F	40	0	60	0	17	117
Granja G	0	0	15	0	19	34
Granja H	3	0	150	0	38	191
Granja I	0	16	45	0	19	80
Granja J	0	97	0	0	0	97
Granja K	0	0	30	0	0	30
TOTAL	58	220	495	43	207	1023

Tabla 3 Número de muestras analizadas para ENC por granja durante el periodo 2014-2018 (En negrita las muestras analizadas por ELISA)

GRANJA	2014	2015	2016	2017	2018	TOTAL
Granja A	0	0	0	19	38	57
Granja B	0	0	45	0	19	64
Granja C	0	0	60	0	0	60
Granja D	0	0	30	24	0	54
Granja E	15	107	60	0	57	239
Granja F	40	0	60	0	17	117
Granja G	0	0	15	0	19	34
Granja H	3	0	150	0	38	191
Granja I	0	16	45	0	19	80
Granja J	0	97	0	0	0	97
Granja K	0	0	30	0	0	30
TOTAL	58	220	465	43	207	1023

4.2. Metodología y procedimiento

Tras la toma de muestras, estas se llevaban al laboratorio teniendo cuidado de conservarlas debidamente refrigeradas, posteriormente se hacían los procedimientos pertinentes para obtener el suero de la sangre (centrifugación, choque térmico). Las muestras se ubicaban en tubos eppendorf y debían encontrarse sin hemolisis u otro tipo de alteración para que fueran óptimas y pudieran procesarse con total seguridad.

A continuación, en la tabla 4, se muestran las fechas de cada visita realizada a las granjas para la toma de muestras (las muestras se procesaron entre los 7 días posteriores al muestreo):

Tabla 4 Fechas de las visitas a las granjas para la realización del muestreo

FECHA	GRANJA
9-abr-14	GRANJA H
9-jul-14	GRANJA F
9-jul-14	GRANJA F
11-sep-14	GRANJA E
25-may-15	GRANJA J
2-jun-15	GRANJA J
9-jun-15	GRANJA J

16-oct-15	GRANJA E
16-oct-15	GRANJA I
5-dic-15	GRANJA E
5-feb-16	GRANJA E
26-feb-16	GRANJA C
1-mar-16	GRANJA H
3-mar-16	GRANJA B
18-mar-16	GRANJA H
28-mar-16	GRANJA D
31-mar-16	GRANJA E
5-abr-16	GRANJA K
15-abr-16	GRANJA I
18-abr-16	GRANJA C
27-abr-16	GRANJA B
12-may-16	GRANJA H
13-may-16	GRANJA H
23-may-16	GRANJA F
23-may-16	GRANJA E
23-may-16	GRANJA F
7-jun-16	GRANJA K
8-jun-16	GRANJA C
8-jun-16	GRANJA I
21-jun-16	GRANJA B
1-jul-16	GRANJA G
1-jul-16	GRANJA H
8-jul-16	GRANJA H
18-jul-16	GRANJA D
18-jul-16	GRANJA E
10-nov-16	GRANJA F
29-nov-16	GRANJA I
21-mar-17	GRANJA A
20-sep-17	GRANJA D
10-may-18	GRANJA E
17-may-18	GRANJA F
25-may-18	GRANJA A
28-jun-18	GRANJA E
28-jun-18	GRANJA H
30-jul-18	GRANJA I
30-jul-18	GRANJA A
10-ago-18	GRANJA H
10-ago-18	GRANJA B
31-ago-18	GRANJA G
31-ago-18	GRANJA E

Para el análisis realizado en busca de anticuerpos contra el virus de Bronquitis infecciosa mediante pruebas de ELISA, se utilizó un kit comercial de prueba ELISA indirecta marca

IDEXX ® en placas de microtitulación de 96 pozos que contiene antígeno del virus de BI. La prueba ELISA se realizó de acuerdo con las recomendaciones del fabricante las cuales se describen a continuación:

1. Inicialmente se tienen las microplacas de 96 pozos cuyos fondos están recubiertos con un antígeno específico.
2. Se agregan 100 microlitros de muestra previamente diluida (1:500) en un solo pozo. De la misma forma se agregan tanto controles positivos como negativos, estos sí, por duplicado obligatoriamente por cada placa o por cada montaje.
3. Se dejan incubar las placas a temperatura ambiente (18–26°C) durante 30 minutos. Durante este periodo ocurre la reacción de los anticuerpos presentes en el suero con el antígeno de la microplaca.
4. Se realiza el lavado de los pozos con agua destilada, lo que permite eliminar aquellas moléculas que no se unieron a la placa mediante el complejo Ag-Ac.
5. Se agregan 100 microlitros del conjugado que contiene anti-anticuerpos marcados, los cuales van a reaccionar con los anticuerpos ya unidos al antígeno de la placa, nuevamente se debe incubar por 30 minutos a temperatura ambiente.
6. Luego de un nuevo lavado se agregan 100 microlitros del sustrato que va a reaccionar con el anti-anticuerpo marcado lo que revelará la reacción mediante la aparición de color
7. Después de un nuevo periodo de incubación (15 minutos) se agrega una solución de frenado que detendrá la reacción generada por el sustrato, lo que permitirá leer las densidades ópticas en un espectrofotómetro capaz de realizar lecturas seriadas de cada uno de los pocillos de la placa ELISA.
8. Mediante el uso de un software se arrojan los datos de los títulos de anticuerpos contenidos en los sueros de muestra junto con otras variables que permiten hacer múltiples análisis por lote como son el coeficiente de variación, desviación estándar, media geométrica, título máximo, título mínimo, entre otros.

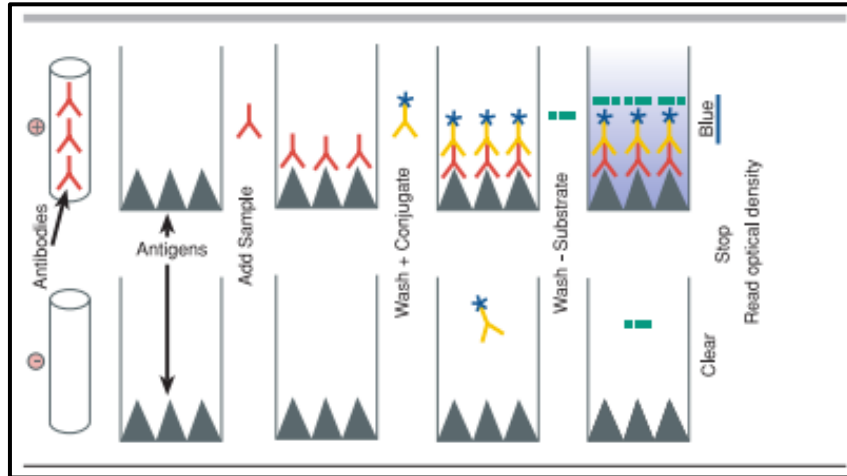


Ilustración 12 Pasos de una ELISA indirecta

(IDEXX ELISA Technical Guide)

Por otro lado, para obtener los títulos contra ENC se utilizó la prueba de inhibición de la Hemaglutinación (HI) en la que se utilizaron placas de 96 pozos con fondo en V junto con una variedad de reactivos dentro de los cuales se encuentran Antígeno de Newcastle comercial, PBS solución concentrada o madre, PBS solución de trabajo y Glóbulos rojos de ave SPF (libre de patógenos específicos) lavados y concentrados. La solución PBS (buffer fosfato salino) se emplea como vehículo neutro para células, ya que no modifica el perfil de expresión y funcionamiento celular normal. El primer paso para la realización del HI es la preparación de la solución de trabajo que no es más que una dilución 1:20 con agua destilada de la solución PBS concentrada. Con dicha solución de trabajo se prepara una solución de glóbulos rojos al 1%, donde se comprueba la viabilidad de estos agregando 25 microlitros de solución de trabajo junto con 25 microlitros de solución de glóbulos rojos a los pozos de una fila de la placa. La solución de glóbulos rojos óptimos para el desarrollo de la prueba será aquellos que presenten formación de botón en el fondo de la placa, la cual al ser inclinada permite evidenciar la formación de una gota en los 12 pozos. También se utiliza para la preparación de la solución de antígeno en la cual se agrega cierto volumen del antígeno comercial dependiendo de la cantidad de muestras a procesar y la capacidad hemoaglutinante del antígeno.

Este protocolo se basa en lo recomendado por el manual de diagnóstico de especies terrestres de la OIE (OIE, 2018). A continuación, se describe de forma más clara el procedimiento:

1. Agregar 25 microlitros de solución PBS de trabajo a todos los pozos de las placas a utilizar.
2. Agregar 25 microlitros del suero problema en el primer pozo de cada fila (A1, B1, C1...). Un suero por cada fila. También agregar controles positivos y negativos.

3. Diluir el suero problema en los siguientes pozos de cada fila tomando 25 microlitros del primer pozo (Ej. A1) y agregándolos y mezclándolos en el siguiente pozo (A2). Así sucesivamente hasta llegar al último pozo (A12), los últimos 25 microlitros se descartan para que todos los pozos contengan el mismo volumen.
4. Agregar 25 microlitros de la solución de antígeno a todos los pozos de la placa que se utilizaron para la prueba.
5. Se incuba 30 minutos a temperatura ambiente (18-26°C), tiempo en el cual se realizará la unión entre el antígeno y los anticuerpos de las muestras evaluadas.
6. Agregar 25 microlitros de la solución de glóbulos rojos al 1% a todos los pozos utilizados para la prueba.
7. Incubar nuevamente 45 minutos a temperatura ambiente, durante este periodo de tiempo si el antígeno no fue captado por anticuerpos debido a su baja cantidad en el pozo se producirá una aglutinación de los glóbulos rojos lo que se evidenciará con la formación de una malla roja. Por el contrario, si el antígeno se unió con los anticuerpos, este pierde su capacidad hemoaglutinante por lo que los glóbulos rojos quedan intactos evidenciándose la formación de un botón y una gota si se inclina la placa.
8. Se interpretan los resultados reportando los títulos del pozo hasta la dilución donde se evidencia la inhibición de la hemaglutinación es decir formación de botón (gota).

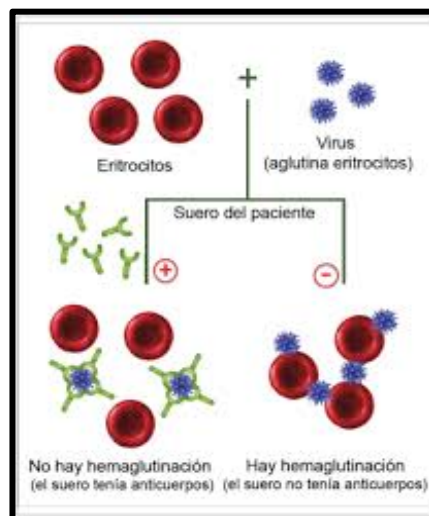


Ilustración 13 Esquema gráfico del HI

(Recuperado de <https://pipetealo.wordpress.com>)

En algunos casos también se utilizó ELISA para determinar títulos contra el virus de ENC, cuyo proceso es exactamente igual al descrito para la BI.

Para el procesamiento de las muestras se requieren de otros materiales a los ya mencionados

anteriormente como, por ejemplo, micropipetas desde 1 a 300 microlitros con sus respectivas puntas y microtubos de polipropileno para dilución, todos proporcionados por el laboratorio.

4.3. Diseño estadístico

Los datos obtenidos en el estudio se analizaron con estadística descriptiva. Las variables estudiadas fueron GMT o Gmean (promedio geométrico), SD (desviación estándar), % CV (porcentaje de coeficiente de variación), Min (título mínimo) y Max (título máximo).

5. RESULTADOS

Para facilitar y enriquecer el análisis de los resultados se decidió agruparlos en dos fases. Primero, el análisis general de la empresa productora, donde se muestran los resultados de todas las granjas durante los cuatro años en los cuales se recolectaron datos. Segundo, un análisis por región de acuerdo con la distribución geográfica de las granjas dentro del departamento de Cundinamarca. En general para determinar la presencia de títulos de anticuerpos se analizaron los siguientes valores: GMT o Gmean (promedio geométrico), SD (desviación estándar), %CV (porcentaje de coeficiente de variación), Min (título mínimo) y Max (título máximo).

5.1. Resultados generales de la empresa.

Inicialmente se tienen los gráficos de la empresa con todos los datos recolectados, en los cuales se obtiene una vista primaria de la situación de esta frente a las dos enfermedades evaluadas y el comportamiento serológico a través del tiempo.

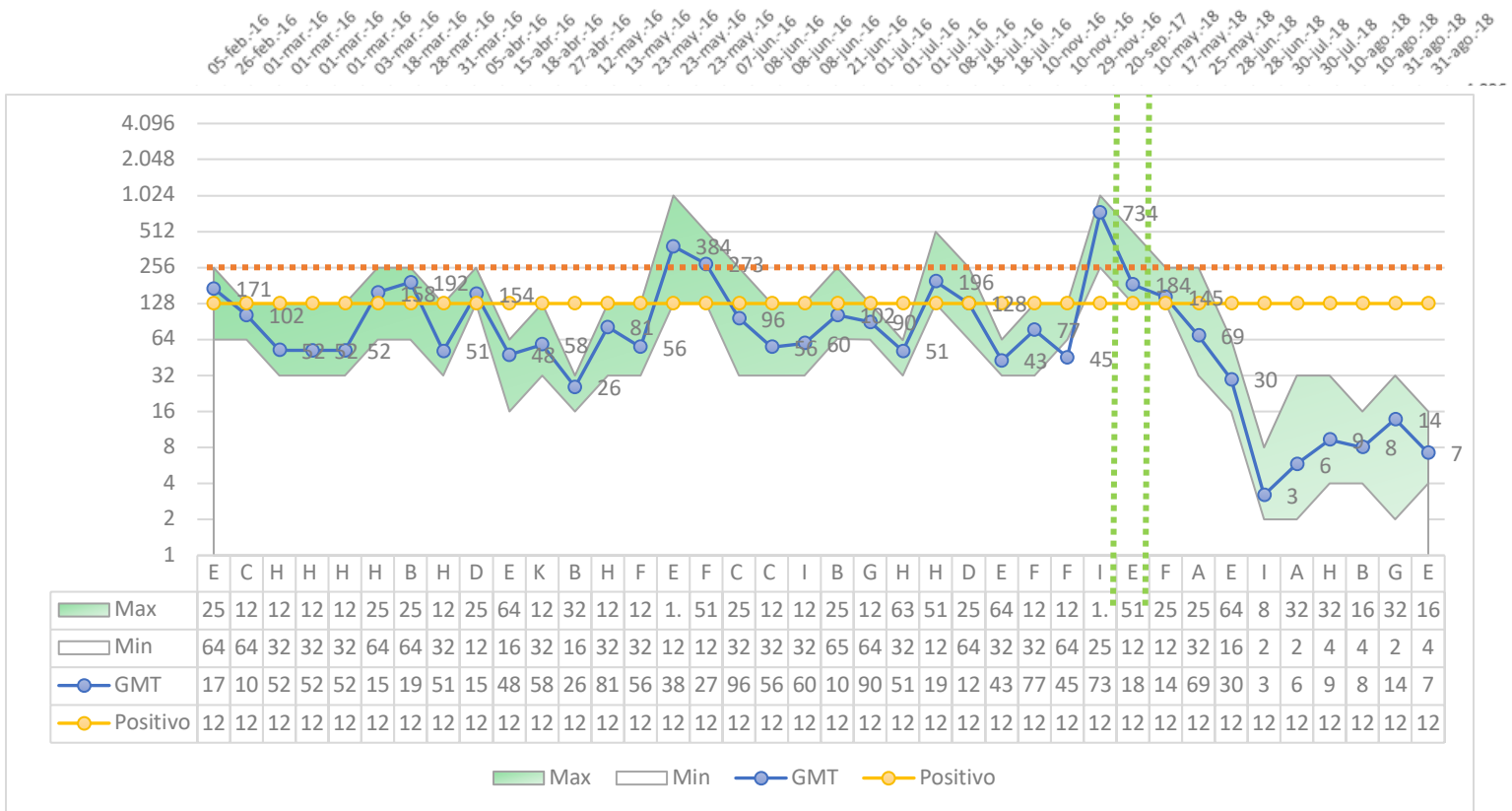


Gráfico 1 Comportamiento serológico para el virus de ENC de la empresa en general obtenido por HI.

Como se puede evidenciar en el gráfico, los resultados se distribuyen principalmente en los años 2016 y 2018, además no se presentan datos de la granja J, ya que no se recolectaron muestras para analizar por HI en el estudio. En general, la mayoría de los resultados se encuentran entre los títulos 64 y 256, siendo 128 el título promedio y por lo tanto el punto de corte. Estos resultados tienen congruencia teniendo en cuenta la edad de los animales en el momento del muestreo (edad de sacrificio o cercanos) el tipo de vacunas aplicadas (viva atenuada y recombinante) y el momento de la aplicación de las vacunas (1 día de edad).

A lo largo del año 2016 e inicio del 2018, los resultados, aunque no fueron totalmente uniformes tuvieron la tendencia de mantenerse en torno al título promedio (128). El 34,2% de los casos (13 de 38 totales) se pueden considerar con sospechosos ya que sus títulos promedio superan el punto de corte, es decir que presentan títulos mayores a 128, especialmente tres de ellos (5,2%), el correspondiente a la granja E en el mes de mayo de 2016 y el presentado en la granja I en el mes de noviembre del mismo año, ya que en estos se evidencian títulos con media geométrica superiores a 256 (384 y 734 respectivamente).

De acuerdo con lo presentado en el gráfico, los resultados del 2018 en la primera mitad del año tienen una tendencia similar a la vista en el 2016 pero los títulos empiezan a disminuir de manera importante a lo largo del segundo semestre, evidenciándose títulos entre 2 y 16.

En general, la homogeneidad de las muestras (representada por la sección de color verde) en cada caso parece ser muy similar a lo largo del tiempo de estudio, pero se nota una mayor dispersión en los resultados presentados al final del año 2018, ya que son casos con títulos mucho más bajos que el promedio. Esto puede indicar que en general los protocolos de vacunación fueron eficientes y se logró una cantidad de títulos adecuados en la gran mayoría de los animales, a excepción de los últimos casos donde los títulos son mas dispersos y se puede explicar porque la media geométrica de estos es tan baja.

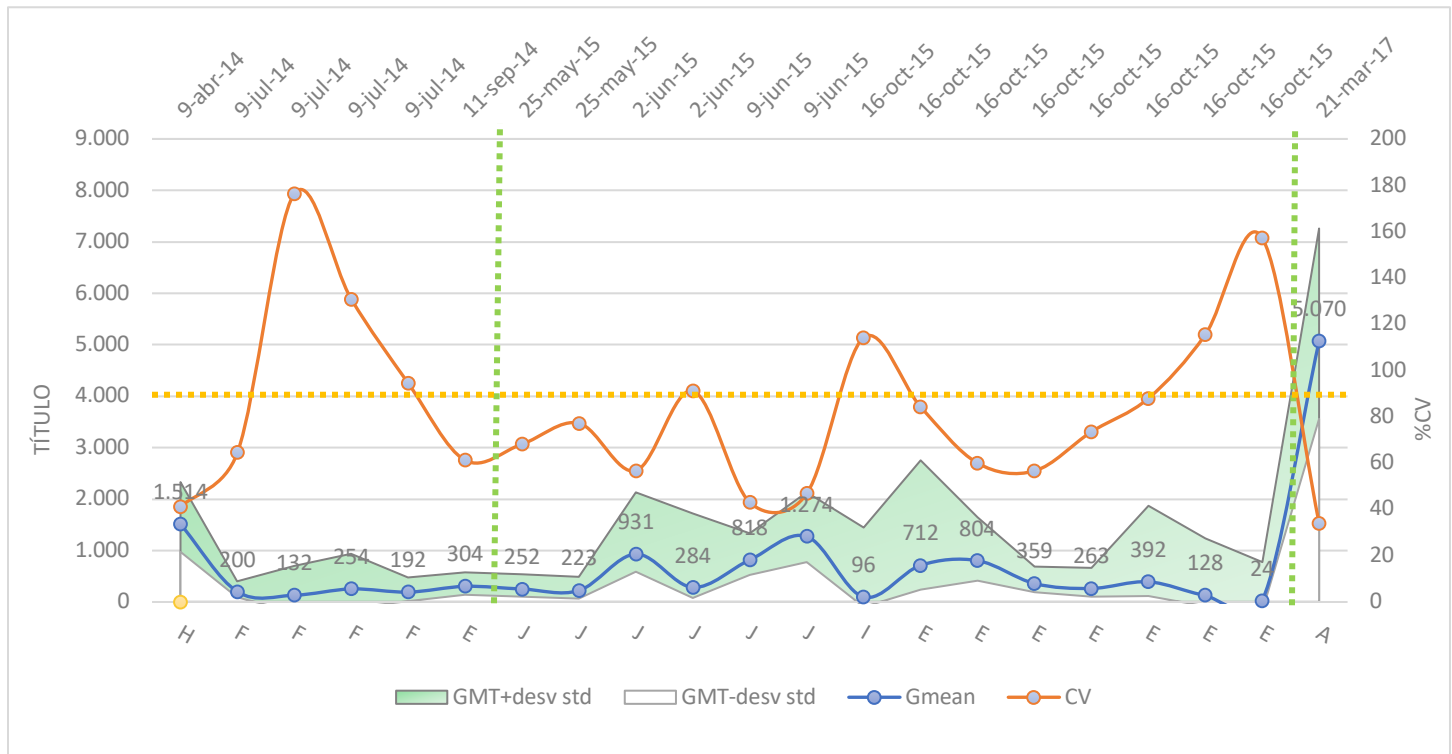


Gráfico 2 Comportamiento serológico para el virus de ENC de la empresa en general obtenido por ELISA indirecta marca IDEXX®

Los resultados obtenidos por la técnica ELISA reflejan el estado inmunitario frente a ENC de 6 granjas durante los años 2014 y 2015. En el año 2014 los resultados son, en su gran mayoría de la granja F, sin embargo, la tendencia de todos los datos es mantenerse con títulos bajos salvo el primer resultado proveniente de la granja H, que, aunque arrojó un título de 1514, no representa una divergencia importante.

A diferencia del año 2014, en el 2015 los resultados pertenecen principalmente a dos granjas. La granja E y la granja J, cuyos resultados no son tan homogéneos partiendo de la desviación estándar como en el 2014, pero sigue manteniendo títulos bajos por debajo de los 2000. Por otro lado, el resultado presentado en el año 2017 correspondiente a la granja A, tuvo el título con media geométrica más alta (5070) en comparación con los demás casos. Es decir que solo el 4,7% de los casos (1 caso de 21 totales) arrojó títulos de 4000 o más. Al igual que lo observado en los resultados obtenidos por HI, estos datos tienden a presentar una mayor heterogeneidad por cada caso individual cuando los valores de los títulos son menores y se hacen más homogéneos cuando estos aumentan. Esto se evidencia al ver que la mayoría de los casos tienen un porcentaje de coeficiente de variación mayor al 60%.

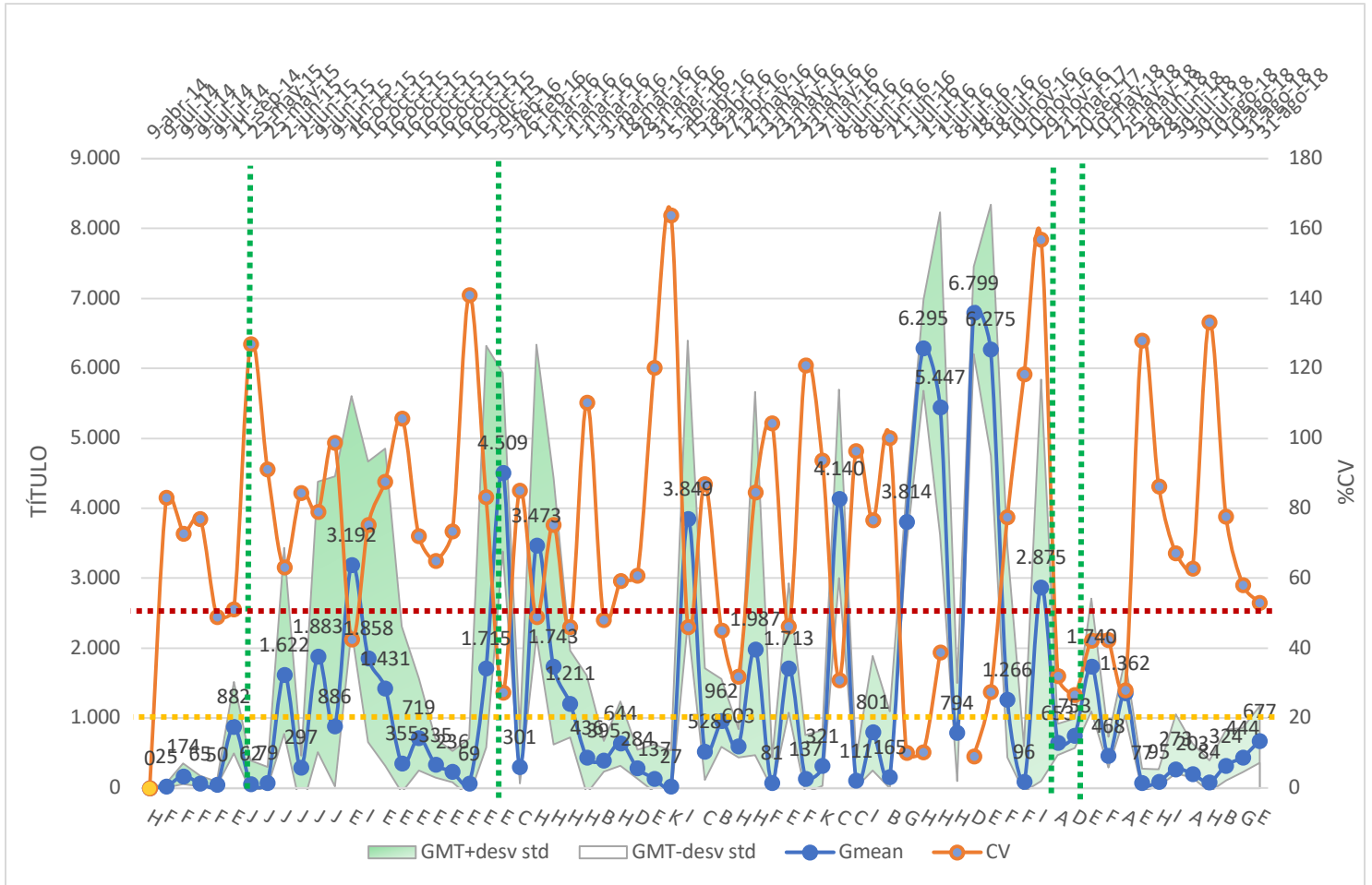


Gráfico 3 Comportamiento serológico para el virus de BI de la empresa en general obtenido por ELISA indirecta marca IDEXX®

Los resultados correspondientes a BI obtenidos por ELISA se distribuyen así, la mayoría de los casos presentan resultados por debajo del título 1000; esto es lo esperado teniendo en cuenta lo referenciado en otros estudios, junto con la edad de los animales al momento del muestreo y el plan vacunal empleado por la empresa contra esta enfermedad (vacuna viva atenuada al día de edad). La otra parte de los resultados, se puede ver en el gráfico, que son casos que superan este título de anticuerpos (44,7% de los casos) los cuales pueden considerarse como sospechosos de infección, especialmente aquellos donde se evidencian algunos picos. En estos se observa un aumento considerable de los títulos y se encuentran ubicados principalmente en el año 2016 en las granjas H, D y E. Estos casos representan el 28,3%, los cuales tuvieron títulos superiores a 2500 (19 casos de 67 totales).

Aunque hubo aumentos en los títulos en algunos casos durante los años 2014 y 2015, no se presentaron picos tan importantes como en 2016. Los resultados en 2018 se mantuvieron bajos, siendo este el año en donde hubo mayor regularidad en los títulos.

En cuanto a la homogeneidad de los datos se hace evidente que los casos donde los resultados presentan títulos más elevados, el porcentaje de coeficiente de variación disminuye, por lo tanto, la gran mayoría de los casos sobrepasa dicho porcentaje al tener títulos bajos. Por otro lado, la desviación estándar se comporta de manera distinta, ya que está es mayor en los casos que se considerarían como positivos, lo que indicaría que dicha variación en la cantidad de títulos de anticuerpos en los animales no dependería de los protocolos de vacunación si no que podría ser causada por posibles infecciones no totalmente establecidas y que recién empiezan a diseminarse por la granja o los galpones.

5.2. Resultados por regiones.

Teniendo en cuenta que el departamento de Cundinamarca se divide en regiones, se decide agrupar de la misma manera los resultados de acuerdo con la ubicación de las granjas como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 5 Distribución geográfica de las granjas de acuerdo con su región y municipio.

Regiones	Municipios	Granjas
Gualivá	Villeta, Sasaima y Nocaima	B, C, E, F, G, I, J
Oriente	Puente Quetame y Guayabetal	A, D, H
Tequendama	San Antonio del Tequendama	K

5.2.1. Región de Gualivá

En esta región se encuentran la mayoría de las granjas del estudio, 7 granjas de 11 totales. En cuanto al análisis realizado a partir de la técnica HI (no hay resultados de la granja J), se puede ver que la gran mayoría de los resultados se mantienen por debajo del título 128 y aquellos cuyo resultado es mayor no se alejan tanto del mismo, salvo el último caso del año 2016 perteneciente a la granja I, el cual supera el título 512. En un muestreo de la granja B, en el 2016 podemos ver que, aunque su media geométrica no supera el título 128 si puede considerarse sospechoso ya tiene un título máximo de 256. Por otro lado, con estos datos también se hace evidente la disminución importante de los títulos en 2018 especialmente en la segunda mitad del año.

Los resultados obtenidos por ELISA pertenecen a las granjas E, F, J e I durante los años 2014 y 2015. La tendencia en cuanto a los títulos en la región de Gualivá es mantenerse por debajo de 2000 sin que haya un pico de elevación u otro evento especial.

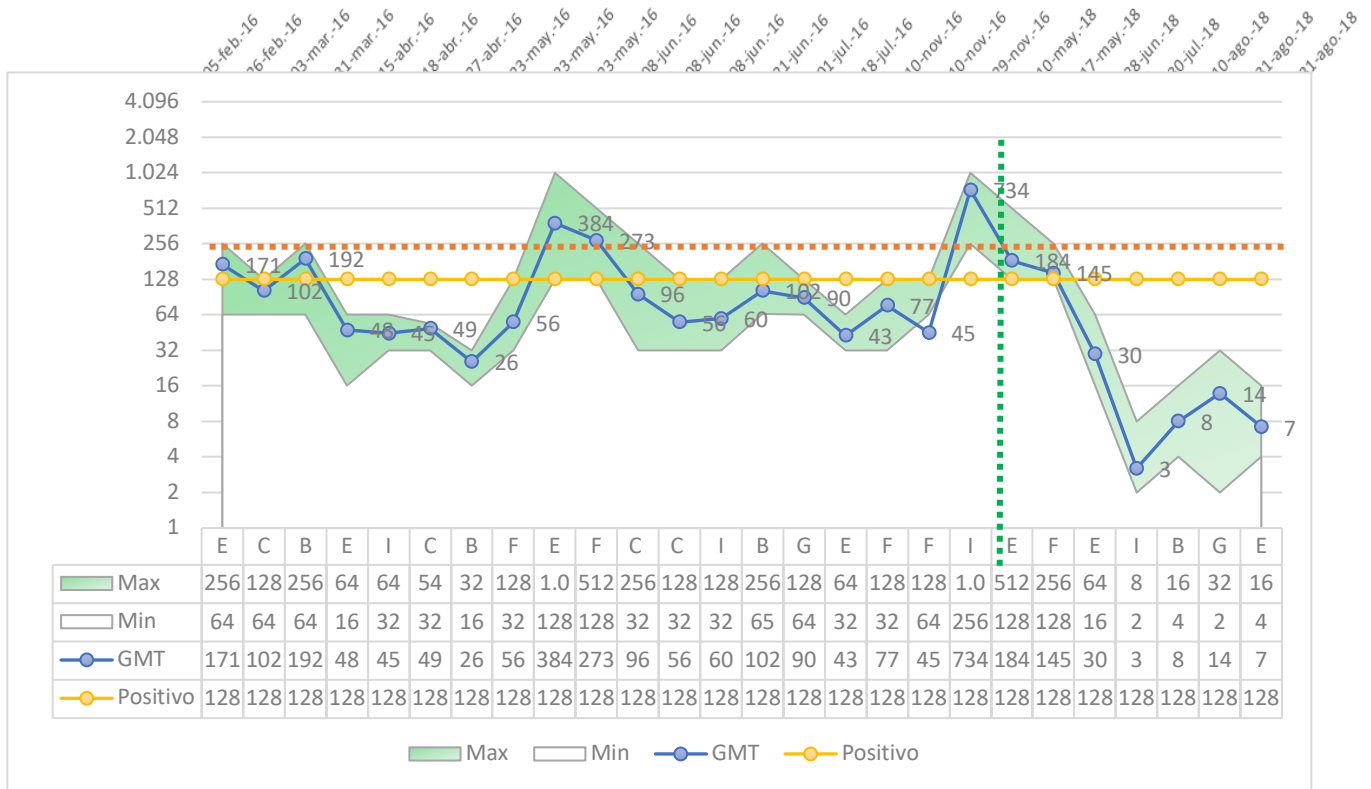


Gráfico 4 Comportamiento serológico para el virus de ENC de la región Gualivá obtenido por HI.

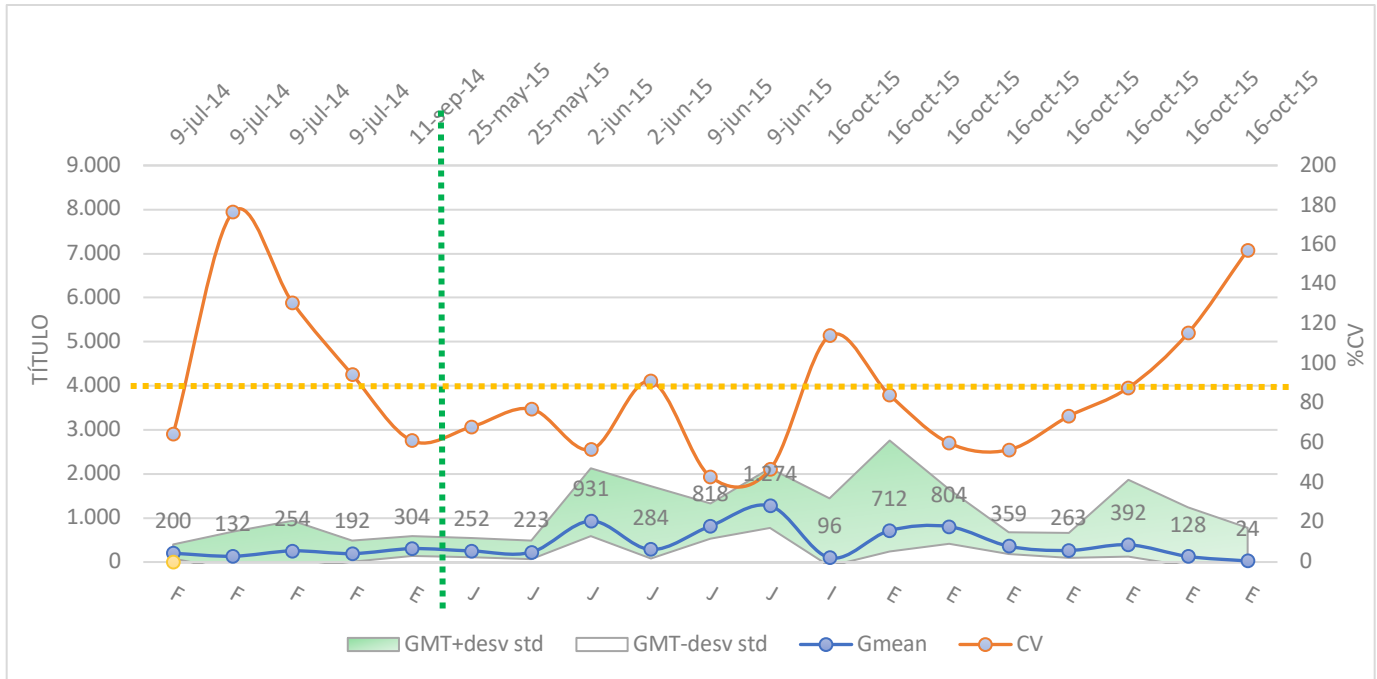


Gráfico 5 Comportamiento serológico para el virus de ENC de la región Gualivá obtenido por ELISA indirecta marca IDEXX®

Ya pasando a los resultados correspondientes a la ELISA contra BI, se evidencia que la mayoría de estos presentan títulos bajos por debajo de 1000. El 41,8% de los casos presentan títulos de anticuerpos superiores, sin embargo, en algunos casos se producen aumentos importantes. Estos picos se generaron especialmente en la granja E, tanto en el año 2015 como en el 2016 alcanzando títulos entre 4000 y 7000. Otros picos de aumento se evidenciaron en la granja I y C. La mayor regularidad en los títulos se presentó en los años 2014 y 2018 ya que en general, los títulos se mantuvieron bajos. No se obtuvieron resultados de estas granjas durante el año 2017.

En cuanto a la heterogeneidad de los resultados de cada caso individualmente, se puede ver que esta es mayor cuando los títulos son menores y disminuye al tener resultados más elevados, hablando del coeficiente de variación. La desviación estándar, por otra parte, es más amplia en los casos positivos, especialmente en los presentados en el año 2015.

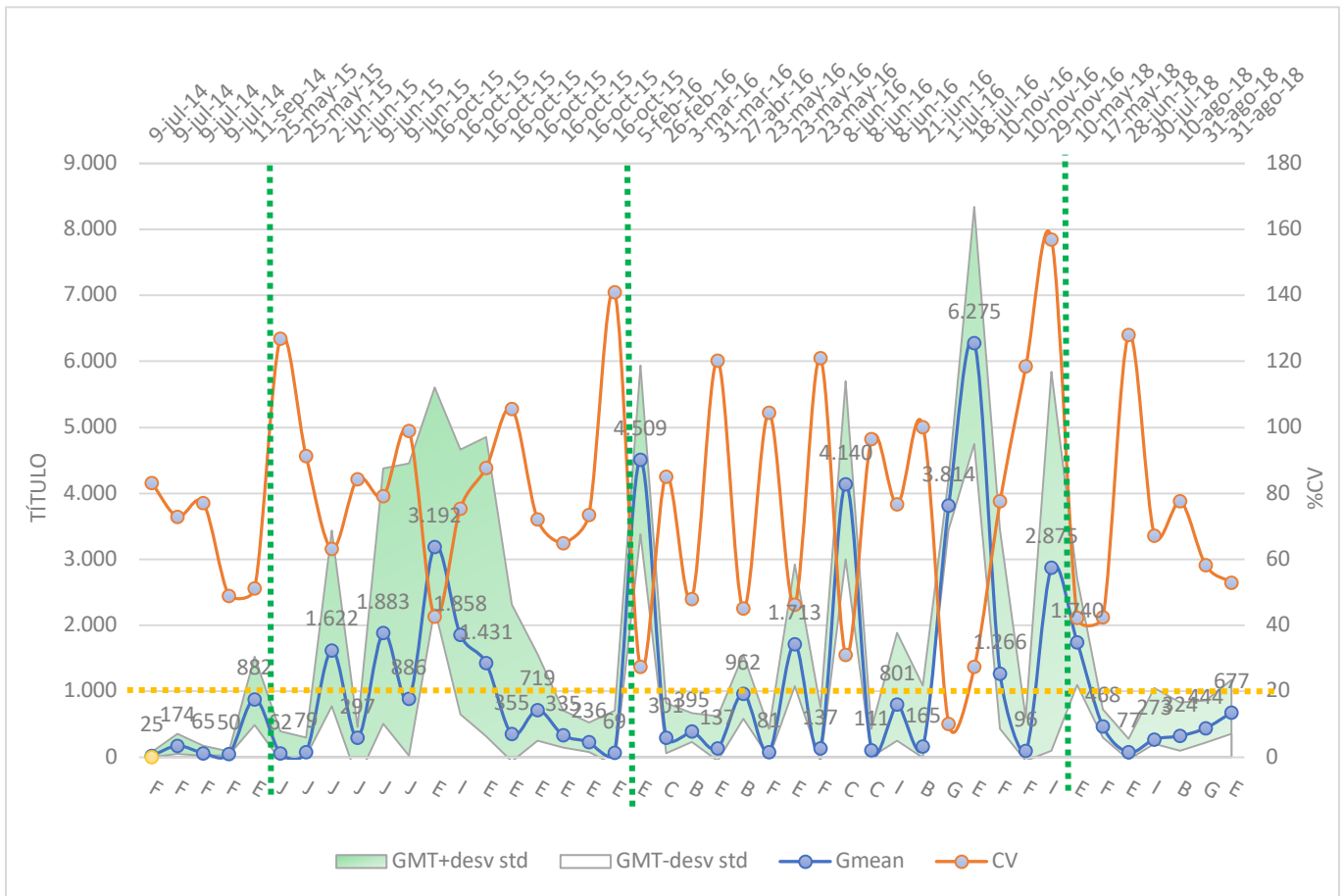


Gráfico 6 Comportamiento serológico para el virus de BI de la región Gualivá obtenido por ELISA indirecta marca IDEXX®

5.2.2. Región de Oriente.

En la región Oriente del departamento de Cundinamarca se encuentran ubicadas tres granjas que fueron objeto de estudio, estas son las granjas A, D y H, las cuales presentaron resultados similares a la región Gualivá. En general, en los resultados obtenidos por HI contra ENC se pueden observar títulos cercanos a 128, la mayoría de ellos por debajo de este. En este caso ningún caso alcanza o supera el título 256 y al igual que lo visto anteriormente, se evidencia una disminución importante en los resultados del año 2018.

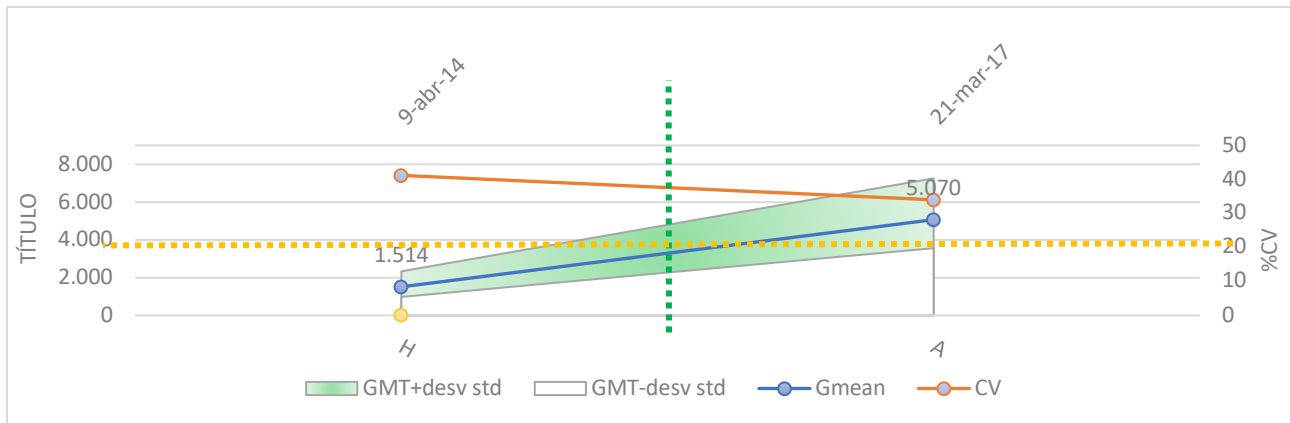


Gráfico 8 Comportamiento serológico para el virus de ENC de la región Oriente obtenido por ELISA indirecta marca IDEXX®

Los resultados de ELISA para BI se encuentran distribuidos así; aquellos resultados que presentan títulos menores a 1000 son menores a aquellos que los superan (60% de los casos) y de estos también se presentan picos que elevan los títulos en algunos resultados por encima de los 6000. Esto se presenta en el año 2016 en algunos casos de la granja H. Los resultados más heterogéneos se dieron durante el mes de marzo del 2016, mientras que los más homogéneos se dieron en julio del mismo año.

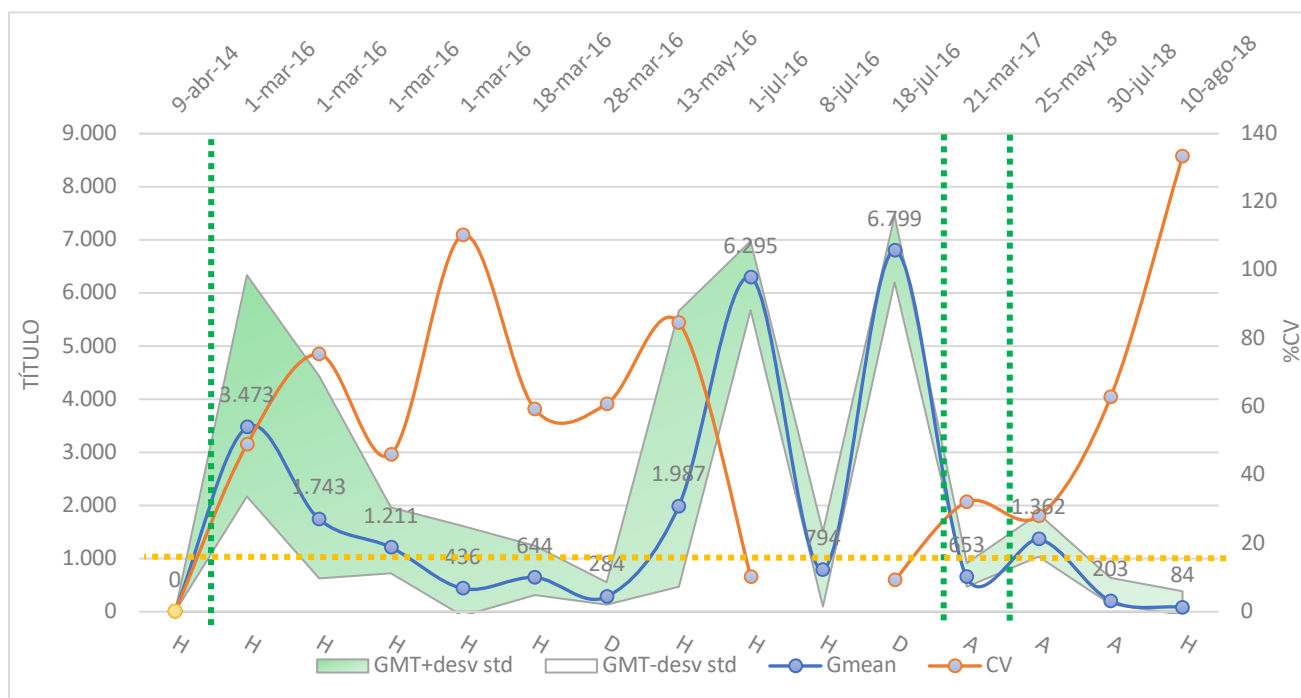


Gráfico 9 Comportamiento serológico para el virus de BI de la región Oriente obtenido por ELISA indirecta marca IDEXX®

5.2.3. Región de Tequendama.

Teniendo en cuenta que en esta región solo se encuentra ubicada la granja K, no fue posible representar los resultados en gráficos ya que solo se recolectaron datos de un caso del año 2016. Dicho caso fue procesado por la prueba HI para ENC, donde la media geométrica fue equivalente a un título de 52, con un coeficiente de variación del 52%. Por otro lado, la prueba ELISA para BI arrojó un título de 204 en la media geométrica con un coeficiente de variación del 164%.

5.3. Interpretación de los resultados y determinación de la seroprevalencia.

De acuerdo a reportes generados por el ICA, siguiendo el procedimiento de HI recomendado por la OIE, la vacunación de los animales contra la ENC con vacunas vivas genera títulos alrededor de los 128 en pollos de engorde (ICA, 2011). Por lo tanto, se consideró como serológicamente positivos aquellos casos en los que su media geométrica fue mayor al título 128. El ICA también menciona que para la técnica ELISA, lo ideal es encontrar títulos por debajo de los 4000 en pollos de engorde próximos a la edad de sacrificio (ICA, 2011). De acuerdo a esta información se consideraron como positivos aquellos casos donde su media geométrica estuviera por encima de este valor. En cuanto a la BI, un estudio realizado en el departamento de Cundinamarca habla de que los títulos esperados para pollo de engorde

vacunado con vacunas tipo Mass con respuestas más leves, sin revacunación y con niveles de desafío bajos, se podrían esperar títulos promedio de hasta 1000 o menos (Córdoba , Vera , Correa, & Ramírez, 2015). Siendo esta última, la referencia más cercana a lo presentado en los casos del presente estudio. Por lo tanto, se consideró como serológicamente positivos aquellos casos en los que su media geométrica presentara títulos por encima de 1000.

Cabe resaltar que la seropositividad de estos casos no indica la presencia de la enfermedad en las granjas ya que esto se debe reflejar con la aparición de signos clínicos y/o alteraciones en la productividad, pero si puede ser un indicativo de alarma que permita evaluar la pertinencia de acciones correctivas en los protocolos de vacunación o planes de bioseguridad. A continuación, se muestra la seroprevalencia de la empresa en general y de cada región, en cada año y en la totalidad del estudio. La forma de calcular la seroprevalencia consiste en tomar la totalidad de casos y determinar porcentualmente la proporción de los mismos que se consideran positivos.

Tabla 6 Número de casos y Seroprevalencia.

	HI ENC			ELISA ENC			ELISA BI		
	Total de casos	Casos positivos	Seroprevalencia (%)	Total de casos	Casos positivos	Seroprevalencia (%)	Total de casos	Casos positivos	Seroprevalencia (%)
Empresa en general	38	13	34,2	21	1	4,8	67	30	44,7
Gualivá	26	8	30,7	19	0	0,0	43	18	41,8
Oriente	13	5	38,4	2	1	50,0	15	9	60,0
Tequendama	1	0	0,0	0	0	0,0	1	0	0,0

De acuerdo a los resultados previos cabe destacar ciertos puntos. La seroprevalencia de ENC por HI, en general es moderadamente baja, ya que el 34,2% de los casos positivos arrojaron títulos por encima de 128 y aquellos que presentaron títulos de 256 o más representan el 10,5% del total (todos presentados en la región de Gualivá). Los resultados que reflejan la seroprevalencia de BI son un poco mayores por lo se les debe dar mayor atención ya que pueden indicar que en el plan vacunal manejado por la empresa no le está dando la importancia necesaria a dicha enfermedad. Por otro lado, en los resultados generales de la empresa frente a BI se observa que algunos casos llegaron hasta títulos de entre 2500 y 6000 o más, los cuales representan la mayor parte de los casos positivos (63,3%). Finalmente se tiene la seroprevalencia de ENC presentada en la región de Oriente la cual es del 50%, sin embargo, esta no es representativa ya que la cantidad de casos no es suficiente para realizar un análisis adecuado, además de que los casos presentados son muy aislados, uno presentado en el 2014 y otro en el 2017.

6. DISCUSIÓN

En el presente estudio se tuvo como objetivo evaluar la seroprevalencia y el comportamiento serológico de dos de las más importantes enfermedades infecciosas que afectan el sector avícola, como lo son la enfermedad de Newcastle (ENC) y bronquitis infecciosa (BI). Para ello se utilizaron técnicas de diagnóstico serológico como la prueba ELISA y la prueba inhibición de la hemaglutinación (HI), las cuales son pruebas que indirectamente se relacionan con la detección del virus causante de enfermedad por medio de los anticuerpos específicos producidos después de la infección (Chaka, Thompson, Goutard, & Grosbois, 2015).

Dichas técnicas demostraron ser efectivas para dicho propósito y por lo tanto se posicionan como una alternativa importante a la hora de identificar focos sospechosos de infección en una población y tal como se ha reportado anteriormente son herramientas importantes para lograr la vigilancia epidemiológica de una enfermedad (ICA, 2011). Sin embargo, debido al funcionamiento de las técnicas mencionadas, lo que en esencia se estaría evaluando es el período de tiempo previo a la toma de muestras, teniendo en cuenta que es difícil determinar la longitud de ese periodo de tiempo, en especial porque un solo momento de muestra hace que la estimación de la prevalencia sea difícilmente interpretable en términos de frecuencia de la enfermedad, la interpretación se dificulta debido a las variaciones geográficas y temporales de las diferentes explotaciones (Das & Kumar, 2015).

A lo largo del estudio se presentaron diferentes aspectos que pudieron llegar a alterar los resultados obtenidos, por ejemplo, que solo se tuvieran datos de los animales en la edad de sacrificio, o que los datos no fueran constantes a lo largo de los años y no se tuviera conocimiento de lo ocurrido en algunos periodos de tiempo, como el año 2017 del cual se obtuvieron muy pocos resultados. Con esta limitación este tipo de técnicas diagnósticas ofrece exclusivamente una estimación de la prevalencia serológica interpretable en términos de frecuencia. También, como no es razonable suponer que los factores respecto a las variaciones geográficas y temporales que se relacionan con la seroprevalencia detectada se mantengan, la frecuencia de la enfermedad que se pueda determinar de la misma forma variará (Chaka, Thompson, Goutard, & Grosbois, 2015)

La prueba HI es una técnica que históricamente ha sido fundamental a la hora de direccionar el diagnóstico de ENC y que es frecuentemente solicitada por encima de la prueba ELISA por practicidad y costos, sin embargo, es fundamental para el correcto desarrollo de este tipo de estudios y para asegurar la veracidad de los resultados, que esta se realice de forma correcta y por un personal altamente capacitado ya que puede presentar dificultades cuando el suero es manipulado de forma incorrecta. En diferentes estudios se ha descrito que los sueros de pollo raramente dan reacciones positivas de tipo no específicas en esta prueba y es innecesario cualquier pretratamiento de los sueros (OIE, 2011) (Pazos, y otros, 2002). Por otro lado, algunos estudios relacionados han demostrado que los sueros procedentes de especies aviares distintas a los pollos en ocasiones pueden causar aglutinación de los eritrocitos, por lo cual la concentración de los títulos de anticuerpos pueden presentarse de forma variada (Díaz, Ríos, & Moreno, 2005) (Rui, y otros, 2010).

La prueba ELISA indirecta determina la concentración de anticuerpos de forma que permite evaluar el estado sanitario de la granja y el estado inmune de los individuos de forma rápida y efectiva, ya que por su sencilla realización facilita el análisis de un gran número de muestras en un corto periodo de tiempo. Además, es capaz de identificar cuantitativamente la concentración de anticuerpos producidos por las aves como respuesta frente a un antígeno específico de una enfermedad en un periodo determinado (ICA, 2011) (Van, 2003). A pesar de esto, las técnicas ELISA presentan algunas desventajas las cuales están relacionadas principalmente con la lectura e interpretación de los resultados; ya que la respuesta positiva que confirma la presencia de anticuerpos no necesariamente determina que el ave o el lote estén enfermos y más si se tiene en cuenta que en explotaciones de alto rendimiento productivo es fundamental la utilización de vacunas para proteger los animales frente a enfermedades de tipo infeccioso (Vineza, 2005). Por lo tanto es importante la implementación de líneas base que permita una correcta interpretación de los resultados teniendo en cuenta los factores que pueden llegar a alterarlos, como por ejemplo, el plan vacunal implementado, el tipo de vacuna, la edad de los animales muestreados, la zona geográfica, entre otros.

La vacunación se considera una herramienta profiláctica efectiva y relativamente económica para el control de las enfermedades infecciosas, como lo es en este caso la ENC y la BI. La utilización de vacunas vivas promueve en las aves una mayor protección frente a los agentes infecciosos (Cuello, Vega, & Noda, 2011). Pero en el último tiempo, debido al crecimiento significativo del sector, se han desarrollado nuevas alternativas como las vacunas Antígeno-anticuerpo o las vacunas recombinantes que aunque pueden no llegar a generar una respuesta tan fuerte o rápida, son más seguras ya que generan menores reacciones post-vacunales y también impiden en mayor medida la interferencia inmunológica (Santander, Álvarez, Jaimes, Gómez, & Villamil, 2014).

Las vacunas vivas, están elaboradas a partir de cepas lentogénicas, las cuales se pueden suministrar por vía intranasal, aerosol u ocular. No se recomienda aplicar la vacuna viva por vía oral en el agua de bebida, porque generalmente el agua disponible en las explotaciones es alcalina o muy ácida (clorinadas) y esto puede inactivar al virus vacunal (Cuello, Vega, & Noda, 2011). Aunque las vacunas vivas atenuadas que se encuentran comercialmente para la prevención de las diversas enfermedades infecciosas se utilizan habitualmente en la industria avícola, no previenen completamente la virulencia del agente ni de sus variantes, ni poseen marcadores genéticos para permitir la diferenciación entre aves infectadas y vacunadas en los métodos diagnósticos, es por esto que el análisis serológico se limita (Miller, y otros, 2015).

Por otro lado, las vacunas recombinantes están compuestas por organismos vivos genéticamente modificados a los que se les ha eliminado los genes virulentos para remplazarlos por genes de otros patógenos contra los cuales se desea inmunizar los animales (Santander, Álvarez, Jaimes, Gómez, & Villamil, 2014).

Luego de vacunar las aves contra la ENC, algunos autores indican cierto comportamiento en la respuesta inmune de los animales, el cual inicia con la generación de anticuerpos contra el virus 2 a 3 días después de administrada la vacuna, en los siguientes 3 a 5 días por efecto de

la neutralización de los anticuerpos de las aves en el momento de ingreso del antígeno se genera que los títulos de anticuerpos en este caso aumenten considerablemente y finalmente la producción de títulos comienza a declinar sino se realiza una nueva inmunización en la granja en las tres o cinco semanas siguientes (Timms & Alexander, 1977.). Por supuesto esto puede tener ciertas variaciones dependiendo del tipo de vacunas utilizadas y la respuesta inmune de los animales.

Las vacunas vivas generan títulos alrededor de los 128 con la técnica HI en pollos de engorde, por lo tanto teniendo en cuenta el plan vacunal de la empresa que fue objeto de estudio, los resultados se encuentran dentro de lo recomendado, ya que no se encuentran títulos muy elevados, no sobrepasan los 128 como ocurrió en la mayoría de los casos y aquellos que lo superan se encuentran rondando al título 256 (ICA, 2011).

Sin embargo, títulos tan bajos como los vistos en los últimos meses del estudio no son buen indicio, existen múltiples motivos que pueden llevar a dichos resultados como son: fallas en el protocolo de vacunación, mala calidad del biológico, errores en el momento de preparación y administración de la vacuna y/o alteración en la respuesta inmune de las aves, tal vez por deficiencias a nivel nutricional o infecciones con enfermedades inmunosupresoras como Anemia infecciosa, Enfermedad de la bursa (Enfermedad de Gumboro) o enfermedad de Marek (Cuello, Vega, & Noda, 2011). Esto, junto con las marcadas desviaciones estándar que se presentaron en algunos de los muestreos de cada explotación, especialmente aquellos con títulos bajos, marca la importancia de analizar los aspectos metodológicos de la vacunación, así como la respuesta inmune por parte de los animales con el fin de explicar las posibles causas de estos resultados. Otro motivo que puede explicar la presentación de los títulos bajos en el 2018 es que la toma de las muestras se dio cuando los animales estaban pasando por la fase inicial de la infección, donde los anticuerpos presentes tratan de combatir el agente infeccioso y por lo tanto disminuyen sin que se de una nueva producción de anticuerpos (Timms & Alexander, 1977.). Cabe destacar que según el ICA a finales del año 2017 y principios del 2018 se presentaron focos de la enfermedad de Newcastle de alta virulencia en los municipios de Fómez y Cáqueza (Región Oriente de Cundinamarca) por lo que la empresa del estudio se pudo ver afectada al tener granjas en zonas cercanas (Gobernación de Cundinamarca, 2018).

Para los sueros procesados por medio de la prueba ELISA, se debe considerar como sospechosos los títulos que se presenten superiores a 4000 en pollos de engorde y a 8000 en las aves de postura (ICA, 2011). Se ha reportado que la cantidad de títulos agrupados y los rangos mínimo y máximo pueden variar dependiendo de la procedencia del kit de Elisa que se emplee (Vineza, 2005). Los títulos que se interpretan como falsos positivos han sido relacionados con la vacunación, a la presencia de microorganismos secundarios, con la manifestación de patologías similares a la enfermedad de Newcastle, a la inadecuada inmunización dada por el plan vacunal a los animales y la condición corporal indeseada (ICA, 2011). En este caso, solo un resultado estuvo por encima de 4000, se presentó en la granja A en el año 2017 con un título promedio de 5070, sin embargo, al no tener más resultados de dicha granja en el mismo año, es difícil realizar un análisis que permita establecer la realidad de la explotación frente a la enfermedad. Lo que se recomienda en estos casos es verificar si

hay alteraciones clínicas o productivas en los animales que puedan ser compatibles con la enfermedad y hacer pruebas complementarias si es necesario.

En cuanto al tema relacionado con BI, en estudios relacionados se mencionan los títulos esperados para pollo de engorde vacunado con una vacuna de virus vivo. Se hablan de títulos entre 500 y 2000, siendo una condición que no daría indicios de una exposición al virus de campo (Swayne, Glisson, Jackwood, Pearson, & Reed, 1998). Estos resultados hacen referencia a animales de mayor edad y no a pollitos de 1 día, ya que los anticuerpos maternos generan títulos más elevados. Aves con aplicación de vacunas fuertes, y ante niveles de desafío de campo bajos presenta títulos promedio esperados entre 1.000 y 2.500. En otros reportes se hace referencia a resultados obtenidos en aves con aplicación de vacunas tipo Mass con respuestas más leves, sin revacunación y que han recibido niveles de desafío bajos en los que se esperarían títulos promedio de hasta 1000 o menos (Córdoba, Vera, Correa, & Ramírez, 2015). Siendo esta última, la referencia más cercana a lo presentado en los casos del presente estudio

En el presente análisis, múltiples casos presentaron resultados con títulos por encima de 1000, siendo los más relevantes los presentados en la granja E con títulos de 4509 y 6275, el caso de la granja H con un título promedio de 6295 y el dado en la granja D con el título más elevado de todo el estudio, un valor de 6799. Dichos casos pasan a ser sospechosos de infección con virus de campo, para verificar esto habría que realizar pruebas complementarias y evaluar la presencia de signos clínicos en la granja. El caso de la granja I en el año 2016 también resalta, ya que los resultados de las dos pruebas realizadas sobrepasan lo esperado, con un título de 734 en el HI de ENC y 2875 en ELISA de BI, pero como se pudo observar, no son títulos tan altos como los vistos en otros casos, por lo que el contacto con virus de campo no parece ser la causa más probable. Es posible deducir que lo más probable es que la empresa presentara múltiples focos de infección de BI especialmente en el año 2016 donde se evidencian los picos de aumento en los títulos, esto concuerda con la elevada desviación estándar vista en estos casos, ya que se traduce en una alta dispersión de presencia de anticuerpos que se da en procesos de desafío de virus de campo (Swayne, Glisson, Jackwood, Pearson, & Reed, 1998). Sin embargo, es importante aclarar que no todos los casos considerados como positivos reflejan la presencia de la enfermedad en las granjas y que lo ideal sería manejar líneas base para cada una de ellas, lamentablemente por el número de muestras, esto no se pudo realizar en este estudio.

Según estudios, el coeficiente de variación (CV) menor de 40%, es considerado como excelente en cuanto al rendimiento inmunitario de la granja, ya que representa una mayor cobertura vacunal en la población. Con el valor del CV es de 40 a 60%, es considerado bueno y si el valor es mayor a 60%, puede indicar que la cobertura ofrecida por el plan vacunal puede no ser la mejor, además de que en la granja tal vez exista la presencia de otro microorganismo que impida que la respuesta inmune sea la ideal en todos los animales. Es importante recalcar que cuando el valor del %CV es mayor, puede ser indicador de que no todas las aves fueron vacunadas de forma correcta y esto puede llevar a que se presente una exposición a los agentes infecciosos tempranamente, además de la disminución de los anticuerpos maternos y de que las muestras tomadas presenten un proceso de seroconversión frente al agente viral presente en la granja (Vásquez, 2009). Sin embargo, el CV puede no ser

tan exacto cuando se tienen resultados con títulos reducidos, ya que indica que los resultados son heterogéneos, pero dentro de un rango de títulos bajos. Esto se evidencia mucho en el presente estudio, ya que cuando los títulos se elevan, el CV disminuye y viceversa.

Por lo mencionado anteriormente se podría llegar a pensar que en la gran mayoría de los casos la cobertura del plan vacunal no fue eficiente, ya que el porcentaje de CV en muy pocos de los casos se mantiene por debajo del 60%, incluso son menos aquellos que tienen un porcentaje menor al 40%; por el contrario gran cantidad de los casos tienen porcentajes muy elevados que pueden llegar hasta por encima del 100%, sin embargo este análisis no parece ser el idóneo para este estudio, ya que hay que tener en cuenta que la edad del muestreo es la opuesta a la edad donde, según el plan vacunal, se realiza la inmunización de los animales (1 día de edad), por lo que al no realizar nuevas vacunaciones el sistema inmune de cada animal puede responder de diferente forma luego de más de 4 semanas de recibir los biológicos.

Por otra parte, según los resultados de los títulos, la seroprevalencia vista en el estudio no es tan elevada como la que se podría sospechar teniendo CV tan altos y por el contrario los resultados coinciden con lo recomendado, en ese orden de ideas, teniendo en cuenta que la vacunación es fundamental para impedir esto, se deduce que la vacunación si cumple con el objetivo de proteger la población en la gran mayoría de los casos. Según lo anterior, la razón más viable que explique los elevados porcentajes de CV es la baja cantidad de títulos reportados en los resultados, ya que como se mencionó anteriormente, estos porcentajes suelen ser elevados si los títulos son muy bajos.

7. CONCLUSIÓN

Las enfermedades infecciosas representan grandes pérdidas económicas para el sector avícola del país, siendo la enfermedad de Newcastle (ENC) y Bronquitis infecciosa (BI) dos de las más importantes y frecuentes, ya que se tratan de enfermedades altamente contagiosas que pueden llegar a generar elevadas tasas de morbilidad y mortalidad. Las pérdidas económicas generadas por este tipo de enfermedades están relacionadas a los costos producidos en tratamientos profilácticos y a las variaciones presentes en los parámetros zootécnicos de los lotes afectados. Además de que son una barrera que afecta el comercio internacional al impedir la exportación de los productos. Es por esto que es fundamental para su control, conocer el estado sanitario de las producciones, por lo que la forma más viable de hacerlo es a partir de planes de vacunación y vigilancia epidemiológica activa por medio de monitoreo serológico.

Los planes vacunales normalmente impiden el desarrollo de las enfermedades infecciosas, ya que, aunque la bioseguridad no sea suficiente y permita que los patógenos ingresen a las explotaciones, los animales son capaces de defenderse debido a la inmunización previa. Sin embargo, muchos son los factores que pueden llegar a ocasionar la presencia de la enfermedad, los cuales pueden relacionarse con la respuesta de los animales frente a la vacuna o como tal, a la calidad de esta. Por lo tanto, es importante conocer si el plan de vacunación adaptado en las granjas es el ideal o si es necesario realizar modificaciones de este.

La empresa del presente estudio practica un plan de vacunación en incubadora, es decir que solo se inmuniza a las aves al día de edad y no se realizan revacunaciones en campo con los animales en producción. De acuerdo a los resultados, la seroprevalencia de la empresa en general frente a ENC por HI fue de 34,2%, cuyo comportamiento serológico fue muy similar a lo largo del estudio y muy pocos de los casos positivos tuvieron títulos extremadamente altos. De igual forma se pudo observar en los casos evaluados por ELISA donde la prevalencia fue de 4,8%. Teniendo en cuenta lo anterior se puede deducir que el plan vacunal de la empresa en la mayor parte del tiempo, cumple con el objetivo de brindar protección a los animales a lo largo de toda su vida productiva, ya que la gran mayoría de los resultados estuvieron cercanos a lo esperado y fueron pocos los casos en los que los títulos elevados destacaron, lo que significa que aparentemente no se llegó a presentar casos de enfermedad clínica en las explotaciones, no obstante esto solo se podría asegurar conociendo la realidad de los animales en campo y si estos presentaron signos compatibles con las enfermedades evaluadas.

Por otro lado, muchos de los resultados correspondientes a BI superan títulos de 1000, siendo la seroprevalencia igual a 44,7% del total de casos de la empresa. A su vez, el 63,3% de los casos positivos arrojaron valores de entre 2500 hasta más de 6000, siendo estos los de mayor relevancia. La región que más se vio afectada fue la región de Oriente, ya que la seroprevalencia de estos casos llegó hasta el 60%. La desviación estándar elevada en estos casos da un mayor indicio de que la enfermedad se presentó en estas granjas, sin embargo, al no conocer el estado clínico de los animales, esto no se puede asegurar. No obstante, sería adecuado reevaluar la importancia que se le está dando a BI

en el plan de vacunación y buscar alternativas que permitan dar una mayor cobertura de protección contra esta.

Por otro lado, tampoco es posible asegurar que los animales hayan adquirido la inmunización deseada, a pesar de que no llegaron a presentar alguna de las dos enfermedades; esto debido a la dispersión que presentaron los anticuerpos de los animales de una misma granja y la misma variación que se observa al comparar los títulos de anticuerpos entre las producciones. Es posible que esto se deba a que los resultados corresponden a la edad de los animales donde los títulos tienden a disminuir y que dicha disminución ocurre de forma diferente en cada animal, por lo tanto, no se permite entender totalmente el nivel de protección y la efectividad del plan de vacunación.

Las dos enfermedades tienen comportamientos similares en cuanto al nivel de títulos de anticuerpos generados por vacunación, ya que en la edad cercana al sacrificio se presentan títulos bajos, por debajo de los 2000 en ELISA y 128 en HI, aproximadamente, siendo los de BI un poco mayores comparados con los de ENC. Este comportamiento fue constante a lo largo de todo el periodo evaluado a pesar del largo tiempo transcurrido entre el 2014 y el 2018, a excepción del periodo final del último año donde los títulos fueron muy bajos. Teniendo en cuenta lo anterior, es posible determinar líneas base de los títulos de anticuerpos producidos por la vacunación a la edad de sacrificio tomando el promedio de todas las medias geométricas de cada resultado, de forma que permita evaluar como finaliza un lote de animales inmunológicamente hablando y si se deben hacer correcciones o modificaciones para el siguiente, correlacionándolo con el estado sanitario de los animales y sus parámetros zootécnicos. Para esto, lo ideal sería obtener datos de todos los lotes y que la información sea la más completa posible, de forma que se facilite el análisis.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (1991). *Inmunología celular y molecular* (6 ed., Vol. 1). Elsevier Saunders.
- Abdisa, T., & Tolera, T. (2017). Review on Newcastle Disease of Poultry and its Public Health Importance. *Journal of Veterinary Science & Technology*, 8.
- Acevedo, A. (2017). Virus de la bronquitis infecciosa: un desafío para la avicultura Infectious bronchitis virus: a challenge for poultry. *Rev. Salud Anim* .
- Alexander, D. (2003). Newcastle disease, other avian paramyxoviruses, and neumovirus infections. *Diseases of Poultry*, 9(19), 496-512.
- Alexander, D., & Jones, R. (2008). Paramyxoviridae. *Poultry Disease*, 6, 294 – 305.
- Beard, C., & Hanson, R. (1988). Newcastle Disease. *Diseases of Poultry*, 8(19), 452-470 .
- Bennett, & Ijpelaar. (2003). Economic Assessment of Livestock Diseases in Great Britain. *University of Reading*.
- Boltz, D., Nakai, M., & Bahra, J. (2004). Avian infectious bronchitis virus: a possible cause of reduced fertility in the rooster. *Avian Disease*, 48, 909–915.
- Briceño, E., Rodríguez, J., & Rodríguez, S. (2012). Seroprevalencia de la enfermedad de Newcastle en gallos de pelea (*Gallus gallus*) del municipio de Saboyá, Boyacá. *Conexión Agropecuaria*, 2(1), 25-34.
- Capua, I., Minta, Z., Karpinska, E., Mawditt, K., Britton, P., Cavanagh, D., & Gough, R. (1999). Cocirculation of four types of infectious bronchitis virus (793/B 624/I B1648 and Massachusetts). *Avian Pathology*, 28, 587–592.
- Cavanagh, D., & Naqi, S. (2003). Infectious Bronchitis. *Diseases of Poultry*, 511-526.
- Chaka, H., Thompson, P., Goutard, F., & Grosbois, V. (2015). Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays and a haemagglutination inhibition tests for the detection of antibodies to Newcastle disease virus in village chickens using a Bayesian approach. *Prev Vet Med*, 21-30.
- Cook, J., Chesher, J., Baxendale, W., Greenwood, N., Huggins, M., & Orbell, S. (2001). Protection of chickens against renal damage caused by a nephropathogenic infectious bronchitis virus. *Avian Pathology*, 30, 423–426.
- Córdoba, G., Vera, V., Correa, J., & Ramírez, G. (2015). Comportamiento del virus de la bronquitis infecciosa aviar en aves con sintomatología respiratoria provenientes de granjas de producción del Departamento de Cundinamarca. *NOVA*, 47-64.
- Cuello, S., Vega, A., & Noda, J. (2011). Actualización sobre la enfermedad de Newcastle. *Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA)*.
- Das, M., & Kumar, S. (2015). Recombinant phosphoprotein based single serum dilution ELISA for rapid serological detection of Newcastle disease virus. *Journal of Virological Methods*, 64-69.
- Díaz, J., Ríos, H., & Moreno, O. (2005). Determinación serológica para las enfermedades de Newcastle y bronquitis infecciosa en las aves de combate de Bucaramanga. *Spei Domus*, 1(1), 29-35.

- Dimitrov, K., Ramey, A., Qiu, X., Bahl, J., & Afonso, C. (2016). Temporal, geographic, and host distribution of avian paramyxovirus 1 (Newcastle disease virus). *Infection, Genetics and Evolution*.
- Erickson, G., Brugh, V., & Beard, W. (1980). Viscerotropic Velogenic Newcastle Disease In Pigeons: Clinical Disease and Immunization. *Avian Diseases*, 24, 257-267.
- FAO. (2004). A technology review: Newcastle disease with special emphasis on its effects on village chickens. *FAO*.
- FENAVI. (Diciembre de 2018). *Fenavi.org*. Obtenido de Federación Nacional de Avicultores de Colombia: <https://fenavi.org/comunicados-de-prensa/el-sector-avicola-crecio-45-en-2018/>
- Ganar, K., Das, M., Sinha, S., & Kumar, S. (2014). Newcastle disease virus: Current status and our understanding. *Virus Research*.
- Geering, W., & Forman, A. (1987). Exotic diseases. *Animal Health in Australia*, 9.
- Gobernación de Cundinamarca. (2018). *www.cundinamarca.gov.co*. Obtenido de http://www.cundinamarca.gov.co/Home/inicio.gob!/ut/p/z0/bYzLDoIwFAW_hQ8wLQ-1W0RTQMBgQgLdmBuoeCO2pBS_X3DNcs5MDhGkJkLBF3uwqBUMCzfi8MgSHsQJ9QoWuBdasqSoroVPq9gjKRFL4DNG-Y26Kc3vZxryjPPotKfl0V0fPJNHeU_ECPa1Q_XUplap1cpKhd0fehikQVDAyoswTTDM3bp_pJq3XbuhjBz1hFYb1GR
- Gómez, G., Lopez, C., Maldonado, C., & Ávila, E. (2010). El sistema inmune digestivo en las aves. *Investigación y ciencia*(48), 9-16.
- Guittet, M., Le Coq, H., Morin, M., Jestin, V., & Bennejean, G. (1993). Distribution of Newcastle disease virus after challenge in tissues of vaccinated broilers. *Proceedings of the Xth World Veterinary Poultry Association Congress*, 179 .
- Hernández, L., Mateus, H., Contreras, J., & Nieto, G. (2005). Prevalencia serológica la enfermedad de Newcastle y Bronquitis en codornices (*Coturnix coturnix*) en el área metropolitana de Cúcuta y municipios aledaños. *Revista Respuestas - Universidad Francisco de Paula Santander*.
- ICA, I. C. (s.f.). *www.ica.gov.co*. Recuperado el 14 de 11 de 2018, de Enfermedad de Newcastle: <https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/enfermedades-animales/newcastle-1.aspx>
- ICA. (2011). *III. Estudio para determinación de prevalencia de infección de Newcastle en las granjas avícolas comerciales en ocho zonas del país subgerencia de protección animal dirección técnica de sanidad animal*. Obtenido de ICA (2011). III. Estudio para determinación de prevalencia de infección de Newcastle en las granjas avícolas comerciales en ocho zonas del país subwww.ica.gov.co: ICA (2011). III. Estudio para determinación de prevalencia de infección de Newcastle en las granjas avícolas comerciales en ocho zonas del país sub<http://www.ica.gov.co/Areas/Pecuaria/Servicios/Enfermedades/Newcastle>
- Ignjatovic, J., & Sapats, S. (2000). Avian infectious bronchitis virus. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz*, 19(2), 493-508.

- Jaimes, J., Gómez, A., Álvarez, D., Soler, D., Romero, J., & Villamil, L. (2013). Las enfermedades infecciosas y su importancia en el sector avícola. *Revista de Medicina Veterinaria*.
- Jindal, N., Chander, Y., Chockalingam, A., de Abin, M., Redig, P., & Goyal, S. (2009). Phylogenetic analysis of Newcastle disease viruses isolated from waterfowl in the Upper Midwest Region of the United States. *Virology Journal*, 6(191).
- Kapczynski, D., Afonso, C., & Miller, P. (2013). Immune responses of poultry to Newcastle disease virus. *Developmental and Comparative Immunology*.
- Kouwenhoven, B. (1993). Newcastle disease. *Virus infectious of birds*.
- Lai, M., & Cavanagh, D. (1997). The molecular biology of coronavirus. *Advances in Virus Research*, 48, 1-100.
- Liu, S., & Kong, X. (2004). A new genotype of nephropathogenic infectious bronchitis virus circulating in vaccinated and nonvaccinated flocks in China. *Avian Pathology*, 33, 321–327.
- Lopez, J., McFarlane, R., & Ulloa, J. (2006). Detection and characterization of infectious bronchitis virus in Chile by RT-PCR and sequence analysis. *Arch. Med. Vet.*
- Macari, M., Furlan, R. L., & Gonzales, E. (2002). *Fisiología aviária aplicada a frangos de corte* (2 ed., Vol. 1). Brazil: Jaboticabal.
- McFerran, J., & McCracken, R. (1988). Newcastle disease . *Kluwer Academic Publishers* , 161-183 .
- Miller, P., Haddas, J., Simanov, L., Lublin, A., Rehmani, S., Wajid, A., & Afonso, C. (2015). Identification of new sub-genotypes of virulent Newcastle disease virus with potential panzootic features. *Infection, Genetics and Evolution*, 19, 216–229.
- Moreno Chan, R. (1994). La Bronquitis infecciosa de las aves y métodos de genética molecular usados en su diagnóstico. *Ciencia Veterinaria*, 6, 19-47.
- Moreno Chan, R. (1994). La enfermedad de Newcastle y algunos avances recientes de diagnóstico. *Ciencia veterinaria*, 6, 49-71.
- Murphy, F., Gibbs, E., Horzinek, M., & Studdert, M. (1999). Paramyxoviridae. *Veterinary Virology*, 26(3), 405-458.
- Naqi, S. (1990). A monoclonal antibody-based immunoperoxidase procedure for rapid detection of infectious bronchitis virus in infected tissues. *Avian Disease*, 34, 893-898 .
- Niesters, H. (2004). Molecular and diagnostic clinical virology in real time. *Clin Microbiol Infect.*, 10(1), 5-11.
- OIE. (2008). *Terrestrial animal health code [chapter 2.3.2 avian infectious bronchitis]*. Obtenido de OIE (World Organisation for AnimalHealth.: http://www.oie.int/eng/normes/mcode/en_chapitre_1.10.4.pdf
- OIE. (2011). *Fichas de información general sobre enfermedades animales enfermedad de Newcastle*. Obtenido de www.Oie.int: [:http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Media_Center/docs/pdf/Disease_cards/NEWCAS-ES.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Media_Center/docs/pdf/Disease_cards/NEWCAS-ES.pdf).
- OIE. (2018). *Newcastle disease. Manual of Diagnostic Test and Vaccine for Terrestrial Animals, vols. 1 and 2., 6th ed., pp. 576*. Obtenido de www.oie.int: <http://www.oie.int/international-standard-setting/terrestrial-manual/>

- Orsi, M., Doretto, L., Camillo, S., Reischak, D., Ribeiro, S., Ramazzoti, A., . . . Arns, C. (2010). Prevalence of Newcastle disease virus in broiler chickens. *Brazilian Journal of Microbiology*, 349-357.
- Padilha de Fraga, A., Gräf, T., Pereira, C., Ikuta, N., Kazantzi, A., & Lunge, V. (2018). Phylodynamic analysis and molecular diversity of the avian infectious bronchitis virus of chickens in Brazil. *Infection, Genetics and Evolution*, 77-83.
- Panisello, T., & Giner, A. (2010). Virus de la bronquitis infecciosa aviar, un enemigo cambiante. *Selecciones avícolas*, 23-28.
- Pazos, N., Pérez, M., Pérez, O., Ruíz, A., Téllez, C., & Villagrán, C. (2002). Practica No. 4: prueba de inhibición de la hemaglutinación (IHA) para el diagnóstico definitivo del virus de la enfermedad del Newcastle. *Universidad autónoma de puebla*.
- Perozo, F. (2015). Importancia del sistema inmunológico sano en aves comerciales. *Selecciones avícolas*(24), 23-26.
- Pradhan, S., Kamble, N., Pillai, A., Gaikwad, S., Khulape, S., Reddyc, M., . . . Dey, S. (2014). Recombinant nucleocapsid protein based single serum dilution ELISA for the detection of antibodies to infectious bronchitis virus in poultry. *Journal of Virological Methods*, 1-6.
- Qin, Z., Tan, L., Xun, H., Ma, B., Wang, Y., Yuan, X., & Liu, W. (2007). Pathotypical Characterization and Molecular Epidemiology of Newcastle Disease Virus Isolates from Different Hosts in China. *J. CLIN. MICROBIOL*, 46(2).
- Reeve, P., Alexander, D., & Allan, W. (1974). Derivation of an isolate of low virulence from the Essex '70 strain of Newcastle disease virus. *Vet Rec*, 94, 38-41.
- Romero, M., Narvaez, W., & Sánchez, J. (2009). Enfermedad de Newcastle en aves de traspatio del eje cafetero colombiano. *Rev.MVZ Córdoba*, 1705-1711.
- Rui, Z., Juan, P., Jingliang, S., Jixun, Z., Xiaoting, Z., Shouping, Z., . . . Guozhong, Z. (2010). Phylogenetic characterization of Newcastle disease virus isolated in the mainland of China during 2001-2009. *Vet. Microbiol*, 141, 246-257.
- Santander, A., Álvarez, D., Jaimes, J., Gómez, A., & Villamil, L. (2014). Diseño de vacunas recombinantes en las enfermedades de Gumboro, Newcastle y Laringotraqueitis infecciosa aviar. *Rev CES*, 262-280.
- Schalk, A., & Hawn, M. (1951). An apparently new respiratory disease of baby chicks. *J. Am. Vet. Med. Assoc*, 78, 413-422.
- Swayne, D., Glisson, J., Jackwood, M., Pearson, J., & Reed, W. (1998). Swayne D, Glisson JA Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens . Swayne D, Glisson J, Jackwood M, Pearson J, Reed W, *A Laboratory Manual for the Isolation and American Association of Avian Pathologist* .
- Timms, L., & Alexander, D. J. (1977.). Cell mediated immune response of chickens to Newcastle disease vaccines. *Avian pathology*, 51-59.
- Tirumurugan, K., Kapgate, S., Vinupriya, M., Vijayarani, K., Kumanan, K., & Elankumaran, S. (2011). Genotypic and Pathotypic Characterization of Newcastle Disease Viruses from India. *Plos One*, 6(12).
- Van, L. B. (2003). El monitoreo mediante ELISA. *Avicultura profesional*, 18-22.
- Vásquez, C. (2009). Algunas consideraciones para la interpretación serológica en Elisa. *Art. Técnico en avicultura*.

- Villacís Rivas, G., Escudero, G., Cueva, F., & Luzuriaga, A. (2015). La prevalencia del virus de Newcastle en pollos nativos de las comunidades rurales en el sur de Ecuador. *Cedamaz*, 5(1), 109-113.
- Vineza, C. (2005). *Interpretación y uso de exámenes de ELISA en Avicultura (Interpretation and use of Elisa)*. Obtenido de www.veterinaria.org: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/curriculum/crisvinu>