

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



Monitoreo en granjas de pollo de engorda del virus de influenza aviar en el municipio de Ciudad Lerdo, Durango en un periodo de Agosto-Diciembre 2018

Por:

SILVIA GUADALUPE LÓPEZ VELÁZQUEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México
Junio 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Monitoreo en granjas de pollo de engorda del virus de influenza aviar en el municipio de Ciudad Lerdo, Durango en un periodo de Agosto-Diciembre 2018

Por:


SILVIA GUADALUPE LÓPEZ VELÁZQUEZ

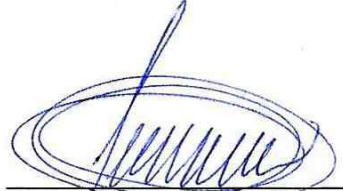
TESIS

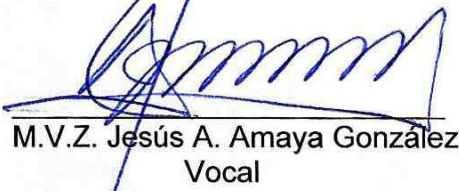
Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:


MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por:


M.C. José Luis Fco. Sandoval Elías
Presidente


M.V.Z. José Luis Güemes Jiménez
Vocal


M.V.Z. Jesús A. Amaya González
Vocal


M.V.Z. Rodrigo I. Simón Alonso
Vocal Suplente


MC. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México
Junio 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Monitoreo en granjas de pollo de engorda del virus de influenza aviar en el municipio de Ciudad Lerdo, Durango en un periodo de Agosto-Diciembre 2018

Por:


SILVIA GUADALUPE LÓPEZ VELÁZQUEZ

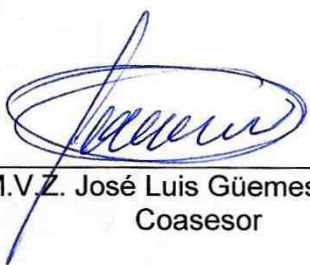
TESIS


Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por el Comité de Asesoría:


M.C. José Luis Fco. Sandoval Elías
Asesor Principal


M.V.Z. José Luis Güemes Jiménez
Coasesor


M.V.Z. Jesús A. Amaya González
Coasesor


MC. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México
Junio 2019

AGRADECIMIENTOS

A Dios, Por darme el privilegio de vivir, por darme la oportunidad de estudiar y aprender para ser una mejor persona y por tus bendiciones que me permitieron alcanzar mi sueño, por haberme guiado y acompañado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos que creía más difíciles.

A mis padres, Sr. Héctor Augusto López López y Sra. Ana María Velázquez Méndez, por apoyarme en esta etapa de mi vida, por tener siempre su apoyo incondicional, por ser parte de mi vida como inspiración para seguir adelante y perseguir mis sueños.

A mi hermana. Ana Elena López Velázquez, por su apoyo emocional que siempre me brindo a lo largo de esta fase de mi estancia como estudiante, por creer en mí y siempre darme consejos y saberme guiar de la mejor manera posible. Y sobre todo por su cariño, amistad y amor.

A mi mejor amigo, Alejandro Orantes Gómez, por su hermandad, cariño y paciencia que me brindo, por siempre aconsejarme de la mejor manera, a lo largo de mi carrera y en los momentos más difíciles de mi vida.

A mis asesores, M.S.P. José Luis Francisco Sandoval, M.V.Z. José Luis Güemes Jiménez por su paciencia, apoyo y guía para poder realizar mi tesis, por ser pieza clave en mi formación como profesionalista.

A mi ALMA TERRA MATER, por permitir fórmame como profesionalista, porque en sus instalaciones adquirí los conocimientos y experiencias que me sirvieron en la vida cotidiana.

DEDICATORIA

A mis padres, Sr. Héctor Augusto López y Sra. Ana María Velázquez Méndez, para ellos que fueron los que desde un principio creyeron en este sueño que quería alcanzar y hoy tengo la satisfacción de demostrarle que no se esquivaron en las expectativas que tenían sobre mí.

A mi hermana, Ana Elena López Velázquez, por brindarme su amistad principalmente, por estar en los buenos y malos momentos, enseñándome que cada día es valioso demostrando que cuando uno tiene las ganas y la fuerza se logran las metas.

A mi amigo, Alejandro Orantes Gómez, por apoyarme desde que comencé la carrera, por ser una persona confiable y regalarme su amistad.

A mi abuelita, Magdalena Méndez Jiménez+, por formar parte de mi familia y aunque se fue antes de tiempo sé que debe estar orgullosa de lo que he logrado. Por ser un ejemplo de lo que es ser buena persona, por enseñarme las cosas que ahora forman parte de mí ser.

RESUMEN

Se realizó un monitoreo, en granjas tecnificadas de pollo de engorda, para verificar si eran portadoras del virus de Influenza Aviar altamente patógeno H5. El estudio se realizó en granjas avícolas ubicadas en el municipio de Ciudad Lerdo, Durango. Se tomaron un total de 1,680 muestras de suero sanguíneo, de igual forma 1,680 muestras de hisopos cloacales en un periodo de agosto-diciembre del año 2018. Las muestras de sangre fueron obtenidas a través del método de punción cardíaca, para su posterior análisis en laboratorio por medio de la prueba de Inhibición de la Hemaglutinación (IH). Y para las muestras de hisopos cloacales se utilizó el método de transcripción reversa de la reacción en cadena de la polimerasa tiempo real (RT-PCR). Todas las muestras fueron analizadas en los laboratorios de CPA y SENASICA ubicados en la Región Lagunera, haciendo así más pronto el resultado. Todas las muestras analizadas resultaron con un diagnóstico negativo. Con el resultado obtenido de este trabajo, se confirma que las aves que se encuentran en las granjas tecnificadas de Ciudad Lerdo, Durango. Se encuentran libres del virus de la enfermedad de Influenza Aviar.

Palabras claves: Influenza Aviar, Suero sanguíneo, Hisopo cloacal, Punción cardíaca, Inhibición de la hemaglutinación (IH), PCR.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIA	ii
RESUMEN	iii
ÍNDICE	iv
ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
INTRODUCCIÓN	1
➤ Objetivo	2
➤ Hipótesis	2
I. INFLUENZA AVIAR	3
1.1 SINONIMIA	3
1.2 ANTECEDENTES DE LA ENFERMEDAD	3
1.3 INFLUENZA AVIAR EN MÉXICO	7
1.4 DESCRIPCIÓN DEL VIRUS	11
1.5 CLASIFICACIÓN DE LA CEPA	13
1.5.1 Clasificación del virus de acuerdo a su base de hemaglutinina y neuraminidasa	13
1.5.2 Clasificación del virus de acuerdo con su patogenicidad	13
1.5.3 Papel patogénico de la Hemaglutinina y Neuraminidasa	14
1.6 TRANSMISIÓN DEL VIRUS	15
1.7 SIGNOS CLÍNICOS DE LA ENFERMEDAD	17
1.8 LESIONES	19
1.8.1 LESIONES MACROSCÓPICAS	19
1.8.2. LESIONES MICROSCÓPICAS	20
1.9 PATOGENIA	20
1. 10 IMPORTANCIA A NIVEL MUNDIAL	22
II. MATERIALES Y METODOS	24
2.1 Ubicación geográfica	24
2.2 Norma para la toma de muestras	25
2.3 Norma para el manejo de muestras en el laboratorio	25

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
IV. CONCLUSIÓN	31
LITERATURA CITADA	32

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Aislamiento del virus de influenza aviar de alta patogenicidad notificada desde 1959 -----	5
Cuadro 2. Situación zoonositaria en los estados de la República Mexicana (19 de Septiembre de 2018) -----	8
Cuadro 3. Resultados de las pruebas de inhibición de la hemaglutinación y PCR	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1 Virus influenza: proteínas de la matriz (M2), (M1), neuraminidasa (NA), nucleoproteínas (NP), hemagglutinina (HA).	12
Fig. 2 Cresta y barbilla edematosas y cianóticas de un pollo con IAAP	18
Fig. 3 Ubicación del municipio de Ciudad Lerdo, Durango	24
Fig. 4 Toma de muestras de sangre por punción cardíaca.....	26
Fig. 5 Toma de muestras de hisopos cloacales.....	26
Fig. 6 Envío de muestras a los laboratorios correspondientes	27
Fig. 7 Total de muestras obtenidas en los ejidos pertenecientes al municipio de Ciudad Lerdo, Durango.....	29

INTRODUCCIÓN

La influenza aviar es una enfermedad que se presenta en todas las aves silvestres y domésticas. Aunque en algunas formas de presentación puede afectar al humano y algunos mamíferos menores. Antiguamente se le conoció como “Plaga Aviar”. La influenza aviar es una enfermedad que se encuentra clasificada dentro de la lista A de la OIE (OIE, 2018).

El virus de influenza aviar pertenece a la familia de los Orthomyxoviridae y al género influenza virus tipo A. Es conocido que los virus de influenza aviar de baja patogenicidad (VIBP) causan una enfermedad clínica, de leve a moderada, en pollos, pero el virus evoluciona a virus de influenza aviar de alta patogenicidad (VIAP) después de múltiples pases en poblaciones de pollos. Los VIAP causan una enfermedad clínicamente severa y fatal con rápida diseminación enfermedad que registra grandes pérdidas económicas (Soda *et al.*, 2011).

Esta enfermedad se ha descrito desde hace más de un siglo y ha sido reportada en varias partes del mundo. El primer caso fue descrito por el científico italiano Eduardo Perroncito en 1878, en Turín Italia. Se han registrado reportes de brotes en Alemania, Irlanda, África del Sur, Hungría, Corea, China, Hong Kong, Irán, Pakistán, Estados Unidos, Australia, y países del medio oriente, esto ha representado grandes pérdidas económicas para estos países (Cox y Subbarao, 2000).

En 1995 nuestro país padeció un brote de influenza aviar de alta patogenicidad en aves, el cual fue controlado en pocos meses, y desde entonces

se encuentra libre de esta enfermedad. Desde 1996 en México se cuenta con una norma oficial mexicana que regula las actividades de la campaña nacional contra la influenza aviar, entre las que destacan: la vigilancia de la enfermedad en aves comerciales y de traspatio y su diagnóstico mediante pruebas de laboratorio, un programa de constelación de granjas y parvadas libres de la infección, la inspección zoonosanitaria y verificación del cumplimiento de requisitos específicos para la movilización de aves y sus productos en el territorio nacional, y la promoción de la notificación de casos sospechosos (SENACICA, 2006).

En el municipio de ciudad Lerdo ubicado en el estado de Durango, la explotación avícola es de suma importancia ya que cuenta con un gran número de granjas tecnificadas, lo que resalta de suma relevancia mantener libre la zona de este virus, en unidades de producción avícola. Este trabajo tiene como propósito monitorear granjas de pollo de engorda para detección del virus de Influenza aviar altamente patógena, esperando encontrar resultados negativos.

➤ **Objetivo**

Determinar la presencia del virus en granjas de pollos de engorda en la Ciudad de Lerdo, Durango.

➤ **Hipótesis**

El municipio de Ciudad Lerdo, Durango es libre del virus de influenza aviar de alta patogenicidad en granjas de pollo de engorda, ya que cuenta con un gran número de granjas tecnificadas, las cuales presentan un buen manejo de bioseguridad.

I. INFLUENZA AVIAR

1.1 SINONIMIA

La influenza aviar es una enfermedad viral contagiosa que se clasifica en dos grupos: altamente patógena, que se propaga rápidamente y puede producir altas tasas de mortalidad; y de baja patogenicidad que causa una enfermedad leve, imperceptible o sin ningún síntoma en algunas especies (SENASICA, 2018).

La forma altamente patógena es conocida también como:

- ✓ Gripe aviar
- ✓ Fowl pest
- ✓ Fowl gripe
- ✓ Brunswick disease
- ✓ Peste aviare
- ✓ Geflugelpest
- ✓ Influenza
- ✓ Virus influenza aviaria
- ✓ Gripe aviaria
- ✓ Gripe del pollo
- ✓ Plaga de las aves o peste aviar
- ✓ Fowl plague

(Repetto, 2006).

1.2 ANTECEDENTES DE LA ENFERMEDAD

La influenza aviar (IA) fue descrita por primera vez como altamente patógena (IAAP) (“flow plague”, plaga de las aves o peste aviar) en 1878 por Edoardo Perroncito en Italia. Descubrió una enfermedad que no era acusada por bacterias y la denominó plaga aviar por su forma de presentación letal. En 1901 Centanni y Savunozzi describen que la enfermedad es causada por una agente filtrable y

demonstraron que la enfermedad podía ser producida en el laboratorio administrando homogenizados ultra filtrados obtenidos de aves muertas (García *et al.*, 2002).

En 1955 el virus fue identificado y clasificado como el virus de la IA en pollos y pavos en diferentes países, así como también el doctor Scheffer en Alemania demuestra que la enfermedad es causada por un virus semejante al de la influenza de los humanos, caballos y cerdos (García *et al.*, 2002).

En América se diagnosticó por primera vez en el año de 1924 en Nueva York, diseminándose a varios estados hasta Missouri, volviendo a reaparecer en el condado de Morris, Nueva Jersey en 1929 (Meede *et al.*, 2001).

Se cree que la primera observación de los signos compatibles con IA en México fue durante el otoño de 1993. En la primavera de 1995, el virus se identificó como IA con antígenos de superficie H5N2, en ese momento se clasificó de baja patogenicidad y se determinó que se encontraba en parvadas de 11 estados del centro del país, los estados del norte y sur resultaron serológicamente negativos (Jordan y Pattison, 1998).

En México se detectó el virus de la influenza aviar de baja patogenicidad (IABP) en mayo de 1994 en los estados de Puebla y Querétaro; el brote fue controlado y erradicado por el dispositivo nacional de emergencia de sanidad animal (DINESA), donde participaron los gobiernos de ambos estados y los avicultores organizados de todo el país (SENASICA, 2012).

El 21 de junio de 2012, las autoridades mexicanas reportaron la presencia del virus de Influenza Aviar de Alta Patogenicidad (IAAP) subtipos H7N3 en tres granjas de ponedoras comerciales en el estado de Jalisco, México. Para prevenir la diseminación de la enfermedad, las autoridades sanitarias implementaron la cuarentena, la restricción de los movimientos tanto de los productos como de los subproductos en la zona donde se identificaron los brotes. Se inició la vigilancia epidemiológica para determinar la diseminación viral, el sacrificio humanitario de las aves sobrevivientes de las granjas afectadas y la desinfección de áreas o establecimientos infectados (Castillo *et al.*, 2017).

En la actualidad, los brotes de influenza aviar siguen representando un problema de salud pública mundial, debido a la circulación de distintas cepas. Ante esta perspectiva, siguen siendo prioritarios los objetivos de la OIE de fomentar la transparencia y comprensión de la situación zoonositaria en el mundo con el fin de proteger la salud pública y garantizar la seguridad del comercio mundial de animales y productos de origen animal (OIE, 2018).

Entre enero del 2014 y noviembre del 2016, la influenza aviar ha sido identificada en 77 países y se han detectado 13 cepas. La influenza aviar ha matado a aves domésticas y silvestres, y han causado la destrucción de cientos de millones de aves de corral (OIE, 2018).

Cuadro 1. Aislamiento del virus de influenza aviar de alta patogenicidad notificada desde 1959

ESPECIE AVIARIA	PAÍS, ESTADO O REGIÓN	AÑO	SUBTIPO
Pollos	Escocia	1959	(H5N1)
Pavos	Inglaterra	1963	(H7N3)
Pavos	Ontario, Canadá	1966	(H5N9)
Pollos	Victoria, Australia	1976	(H7N7)
Pollos	Alemania	1979	(H7N7)
Pavos	Inglaterra	1979	(H7N7)
Pollos y Pavos	Pennsylvania, EUA	1983	(H5N2)
Pavos	Inglaterra	1983	(H7N8)
Pollos	Victoria, Australia	1985	(H7N7)
Pavos	Inglaterra	1992	(H5N1)
Pollos	Victoria, Australia	1992	(H7N3)
Pollos	Queensland, Australia	1994	(H7N3)
Pollos	México	1994	(H5N2)
Pollos	Paquistán	1994	(H7N3)
Pollos	Hong Kong	1997	(H5N1)
Pollos	Nueva Gales, Australia	1997	(H7N4)

Pollos y Pavos	Italia	1997	(H5N2)
Pollos y Pavos	Italia	1999	(H7N1)
Pollos y Pavos	Chile	2002	(H7N3)
Pollos y Pavos	Holanda-Bélgica-Alemania	2003	(H7N7)
Diferentes especies domésticas y silvestres	Diferentes países de Asia	2003-2004	(H5N1)
Pollos	Canadá	2004	(H7N3)
Pollos	Texas	2004	(H7N3)
Avestruces	Sudáfrica	2005	(H5N1)
Diferentes especies domésticas y silvestres	Diferentes países de Asia, medio oriente, Europa y África	2005-2006	(H5N1)
Pollos	Alemania, china, Austria, España, Italia	2006	(H5N1)
Pollos	Sudáfrica	2006	(H5N2)
Pollos	Alemania, China, Francia, Pakistán, Japón	2007	(H5N1)
Pollos	Canadá	2007	(H7N3)
Pollos	Alemania, china, Egipto, India, Japón	2008	(H5N1)
Pollos	Canadá	2008	(H7N3)
Pollos	Reino unido	2008	(H7N7)
Pollos	Alemania, china, Hong Kong, Rusia	2009	(H5N1)
Pollos	España	2009	(H7N7)
Pollos	China, Corea, India, Israel	2010	(H5N1)
Pollos	España	2010	(H7N7)
Pollos	Hong Kong, china, Corea, Indonesia, Israel	2011	(H5N1)

Pollos	Sudáfrica	2011	(H7N7)
Pollos	Australia	2012	(H7N7)
Pollos	China, Hong Kong, India. Israel	2012	(H5N1)
Pollos	México	2012	(H7N3)
Pollos	Sudáfrica	2012	(H5N2)
Pollos	Australia, Italia	2013	(H7N7)
Pollos	Australia	2013	(H7N2)
Pollos	China	2013	(H5N1)
Pollos	México	2013	(H7N3)
Pollos	Alemania	2014	(H5N8)
Pollos	Australia	2014	(H7N2)
Pollos	Canadá, china	2014	(H5N2)
Pollos	Alemania	2015	(H5N8)
Pollos	Alemania	2015	(H7N7)
Pollos	Canadá	2015	(H5N2)
Pollos	Estados unidos de américa	2015	(H5N8)
Pollos	México	2015	(H5N3)
Pollos	Alemania	2016	(H5N8)
Pollos	México	2017	(H7N3)
Pollos	Rusia	2018	(H5N1)

(García y Ramos, 2006) (OIE, 2019)

1.3 INFLUENZA AVIAR EN MÉXICO

La primera observación de signos clínicos compatibles con la influenza aviar en México fue durante el otoño de 1933, en la primavera de 1994, el virus se identificó como influenza aviar con antígenos de superficie H5N2, en aquel entonces se clasificó como de baja patogenicidad (Gurria, 2000).

En diciembre de 1994 y enero del año siguiente, se identificaron casos de IA de alta patogenicidad en los estados de Querétaro y Puebla. En respuesta, las

autoridades activaron el Dispositivo Nacional de Emergencia en Salud Animal para el control de la IA, que incluyó, entre otras medidas, el sacrificio de las parvadas infectadas y un programa de vacunación para reducir el riesgo en los estados con casos de infección. El programa dio como resultado que en mayo de 1995 se eliminara el virus de alta patogenicidad; sin embargo, el virus de baja patogenicidad se ha mantenido en la avicultura comercial (García y Ramos 2006).

Esta enfermedad ha adquirido gran importancia en México por el gran impacto económico que ha representado en la industria avícola, la forma en que se han incrementado la movilización comercial de las aves, y a la participación de aves silvestres como fuente de infección a las domésticas (Cedo, 2001).

Durante el 2012, un brote de Influenza Aviar de Alta Patogenicidad ocasionado por el subtipo H7N3, en México, infectó y ocasionó la muerte o el sacrificio de alrededor de 22 millones de aves ponedoras. Durante este periodo, el principal desafío de los avicultores fue asegurar el flujo de comercialización del huevo. Además de los protocolos sanitarios y de vacunación (Castillo *et al.*, 2017).

El virus de la influenza aviar en México altamente patógeno fue erradicado de la avicultura en México en un periodo relativamente corto, mediante el uso de una vacuna inactivada emulsionada, ejecutando, medidas de bioseguridad y por el control del movimiento de aves y productos avícolas. En México se mantiene un programa de vigilancia permanente y confiable para la influenza aviar. Es posible controlar y erradicar el virus de la influenza aviar principalmente mediante la despoblación controlada e granjas positivas, ejecutando medidas de bioseguridad con el uso de vacunas (Horimoto y Kawaoka, 2001).

Cuadro 2. Situación zoonosanitaria en los estados de la República Mexicana (19 de septiembre de 2018)

ESTADO O REGION	INFLUENZA AVIAR H5N3	INFLUENZA AVIAR H7N3
Aguascalientes	Escasa prevalencia (22/06/11)	Bajo esquema vacunación
Baja california	Libre	Libre

	(29/05/96)	
Baja california sur	Libre (29/05/99)	Libre
Campeche	Libre (14/07/95)	Libre
Colima	Libre (01/06/98)	Libre
Chiapas	Libre (12/07/94)	Bajo esquema de vacunación
Chihuahua	Libre (14/07/95)	Libre
Coahuila	Escasa prevalencia (22/06/11)	Bajo esquema de vacunación
Ciudad de México	Escasa prevalencia (22/06/11)	Libre
Durango	Escasa prevalencia (22/06/11)	Bajo esquema de vacunación
Guanajuato	Escasa prevalencia (22/08/11)	Bajo esquema a de vacunación
Guerrero	Escasa prevalencia (22/06/11)	Libre
Hidalgo	Escasa prevalencia (22/06/11)	Bajo esquema de vacunación
Jalisco	Escasa prevalencia (22/06/11)	Control bajo esquema de vacunación
México	Escasa prevalencia (22/06/11)	Bajo esquema de vacunación
Michoacán	Escasa prevalencia (22/06/11)	Bajo esquema de vacunación
Morelos	Escasa prevalencia (22/06/11)	Bajo esquema de vacunación

Nayarit	Libre (13/05/99)	Bajo esquema de vacunación
Nuevo león	Libre (07/10/99)	Bajo esquema de vacunación
Oaxaca	Escasa prevalencia (22/06/11)	Libre
Puebla	Escasa prevalencia (22/06/11)	Bajo esquema de vacunación
Querétaro de Arteaga	Escasa prevalencia (22/06/11)	Bajo esquema de vacunación
Quintana Roo	Libre (14/07/95)	Libre
Región lagunera	Escasa prevalencia (22/06/11)	Bajo esquema de vacunación
San Luis potosí	Escasa prevalencia (22/06/11)	Bajo esquema de vacunación
Sinaloa	Libre (25/05/95)	Libre
Sonora	Libre (25/05/95)	Libre
Tabasco	Libre (01/02/06)	Libre
Tamaulipas	Libre (07/10/99)	Libre
Tlaxcala	Escasa prevalencia (22/06/11)	Bajo esquema de vacunación
Veracruz	Libre (27/06/08)	Bajo esquema de vacunación
Yucatán	Libre (01/04/95)	Libre
Zacatecas	Escasa prevalencia (22/06/11)	Bajo esquema de vacunación

(SENASICA, 2018).

1.4 DESCRIPCIÓN DEL VIRUS

Los virus de la influenza pertenecen a la familia Orthomyxoviridae y se distribuyen en tres géneros: Influenzavirus A, Influenzavirus B e Influenzavirus C, que corresponden a los virus de influenza tipo A, B y C, respectivamente. La diferencia principal entre los géneros radica en las variaciones antigénicas en la proteína de la matriz y de la nucleoproteína que se utilizan para la caracterización del virus y que son específicas para cada género. Los tipos B y C se encuentran típicamente solo en humanos, los virus de influenza tipo A se hallan en los seres humanos, además en cerdos, caballos y ocasionalmente otros mamíferos como ballenas, focas y muchas especies aviares (Capua *et al.*, 2000).

Este tipo de virus se divide, a su vez, en subtipos de acuerdo con las características antigénicas de la hemaglutinina (HA) y la neuraminidasa (NA), que son glicoproteínas en forma de espículas localizadas en la envoltura del virus (García y Ramos, 2006).

Existen subtipos del virus de la Influenza Aviar debidos a las diferencias antigénicas en base a la hemaglutinina (H) y a la neuraminidasa (N) presentes en su estructura. Para el virus influenza A hay 16 diferentes antígenos HA (H1 al H16) y 9 diferentes antígenos NA (N1 al N9). Hasta hace poco tiempo se reconocían 15 subtipos HA, pero un nuevo tipo (H16) fue aislado en 1999 y reportado en 2005 en Suiza y Holanda. Exhiben una gran multiplicidad antigénica y capacidad de mutación, así como un amplio espectro de virulencia (Linzitto *et al.*, 2005).

Los virus de IA son virus con ARN, son pleomorficos, esféricos o filamentosos y de un diámetro de alrededor de 100 nm. Tiene una envoltura lipídica de 2 capas con espículas compuestas de glicoproteínas; una en forma de bastoncillos es la hemaglutinina y otra en forma de hongo es la neuraminidasa. La envoltura está sobrepuesta a la matriz (M) que consiste de 2 proteínas M1 y M2. Tanto la envoltura como la matriz tienen el propósito de proteger el genoma que se encuentra en su interior. La nucleoproteína (NP), de simetría helicoidal, y la proteína M1 determina n

la especificidad del tipo, lo que permite distinguir entre los virus A y B de influenza (García y Ramos, 2006).

El genoma del virus está fragmentado en 8 segmentos de cadena negativa, compuestos por una molécula de ARN viral, el cual codifica para 10 proteínas: proteínas de polimerasa (PB1, PB2 y PA), proteína de nucleocápside (NP), hemaglutinina (HA), neuraminidasa (NA), proteína de la matriz (M1 y M2) y proteínas no estructurales (NS1 y NS2).

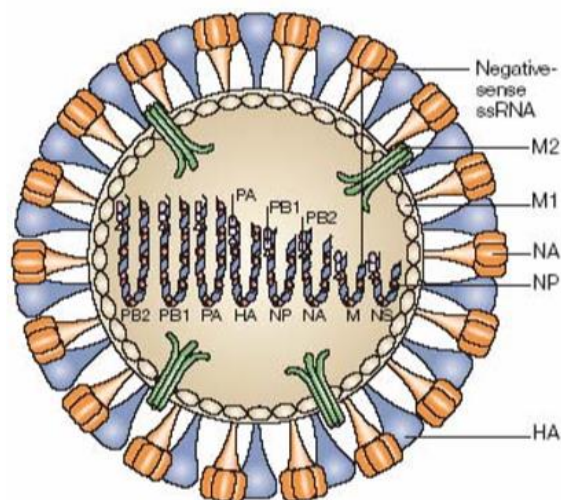


Fig. 1 Virus influenza: proteínas de la matriz (M2), (M1), neuraminidasa (NA), nucleoproteínas (NP), hemaglutinina (HA). (Horimoto y Kawaoka 2001).

En general los influenzavirus son muy lábiles frente a las altas temperaturas y los desinfectantes. Los virus de Influenza Aviar presentan diferentes grados de patogenicidad que van desde infecciones subclínicas hasta cuadros letales (Jiménez, 2007).

La combinación de la neuraminidasa y la hemaglutinina determina el subtipo del virus A. Los anticuerpos para la hemaglutinina confieren inmunidad contra las reinfecciones por cepas que tengan la misma hemaglutinina. El genoma tiene 8 segmentos de ARN monocatenario, 3 de los cuales codifican para los antígenos H y N. Esta propiedad del virus indica la posibilidad de recombinaciones genéticas entre diferentes subtipos. El número de combinaciones posibles de H y N es más alto que 100; ello sugiere la enorme potencialidad de variación antigénica del virus A (García y Ramos, 2006).

1.5 CLASIFICACIÓN DE LA CEPA

1.5.1 Clasificación del virus de acuerdo a su base de hemaglutinina y neuraminidasa

Esta clasificación se basa en el subtipo de hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA). En los influenzavirus A se ha logrado identificar 16 tipos diferentes de Hemaglutinina, los cuales se denotan con la letra H seguida por un número (H1H16). Además, también se ha identificado 9 tipos distintos de Neuraminidasa que se denotan con la letra N y un número (N1-N9) (Jiménez, 2007).

Las Ha tienen característica de combinarse con las NA, en teoría, las posibilidades de combinación darían como resultado un gran número de virus diferentes de IA cada uno con características antigénicas diferentes (Pérez y casas, 2004).

1.5.2 Clasificación del virus de acuerdo con su patogenicidad

Se distinguen dos grupos de virus según su capacidad para causar la enfermedad, el de la influenza aviar altamente patógena, se propaga rápidamente, puede ocasionar una enfermedad grave y producir altas tasas de mortalidad (hasta el 100% en 48 horas). El virus de la influenza aviar de baja patogenicidad, puede causar una enfermedad leve, a menudo desapercibida o sin ningún síntoma en algunas especies (SENASICA, 2016).

Históricamente, los problemas más graves y severos de la influenza aviar han sido causados por virus de subtipos H5 Y H7, los que inicialmente se presentan como de baja patogenicidad, y después por mutación de su hemaglutinina, se transforman en virus de alta patogenicidad. Lo que más frecuentemente se observa es una alta morbilidad y baja mortalidad, sin embargo, en el caso de virus altamente patógenos, que por fortuna no son tan frecuentes, la morbilidad y mortalidad pueden alcanzar al 100% (Pearson, 2004).

Cualquier virus de IA que inoculado con una dilución 1:10 de fluido alantoideo o cultivo de tejidos libre de bacterias, por vía intravenosa, en ocho pollos libres de patógenos específicos de 4 a 8 semanas de edad, cause la muerte a seis, siete u ocho pollos, en un término de hasta 10 días después de la inoculación se considera de alta patogenicidad (NOM-044-ZOO-1995).

Cepas de baja patogenicidad: Cualquier virus de IA que inoculado con una dilución 1:10 de fluido alantoideo o cultivo de tejidos libre de bacterias, por vía intravenosa, en ocho pollos libres de patógenos específicos de 4 a 8 semanas de edad, es inocuo o cause la muerte a cinco o menos pollos, en un término de hasta 10 días, debiendo corresponder su secuencia de aminoácidos en el sitio de ruptura de la hemaglutinina, a la de los virus de baja patogenicidad (NOM-044-ZOO-1995).

La HA en sí, es quien determina la patogenicidad viral y con las que el virus se adhiere a las células, mientras que las NA actúan como enzimas que rompen el ácido neuromínico, dando así el fenómeno de elusión. La patogenicidad puede ser determinada por la secuencia de aminoácidos en el punto de unión de la HA. La infectividad del virus depende del rompimiento de este punto de unión, lo cual se llena a cabo por medio de las proteasas, depende directamente del número de aminoácidos y son sensibles a enzimas similares ala tripsina, limitándose así al tracto respiratorio y digestivo (Pearson, 2004).

1.5.3 Papel patogénico de la Hemaglutinina y Neuraminidasa

La hemaglutinina le permite a los virus influenza fijarse a receptores específicos en la membrana plasmática de células susceptibles, desempeña una actividad hemaglutinante frente a eritrocitos de aves y es la responsable de generar el desarrollo de anticuerpos protectores (inhibidores de la hemoaglutinación y neutralizantes) en los individuos vacunados. Esta proteína, además, representa el principal determinante de patogenicidad de los influenzavirus (Jiménez, 2007).

Sus funciones son:

- ✓ Fijación y unión al receptor de la célula huésped

- ✓ Penetración de las partículas virales a través de la membrana celular
- ✓ Actuación como antígeno mayor del virus que se expresa en la superficie de las células infectadas

En general, la proteína N no está asociada a patogenicidad, y su principal papel consiste en favorecer la diseminación viral dentro del organismo (Jiménez, 2007).

Sus principales funciones son la eliminación de los residuos de ácido siálico de la HA y de la superficie celular, favoreciendo la liberación de las partículas virales y diseminación a otras células (difusión-infección). Participa en el transporté del virus a través de la mucina presente en el tracto respiratorio, permitiendo la llegada del virus a otras células epiteliales (expansión-infección) (Aparicio *et al.*, 2005).

1.6 TRANSMISIÓN DEL VIRUS

La mayoría de especies de aves domésticas y salvajes parecen ser susceptibles a IA. La población de aves silvestres (migratorias): aves acuáticas salvajes (incluyendo gansos, patos, cisnes, aves de la costa y el mar) constituyen el reservorio de los virus de IA y a través del mundo “transportan” el virus, pero los signos clínicos de la enfermedad son suaves o no evidentes; es decir que actúan como reservorio llevando el virus en el tracto intestinal (Buscaglia, 2004).

Las aves infectadas excretan virus de las vías respiratorias, conjuntiva y heces, por lo tanto, las formas probables de transmisión incluyen tanto contacto directo entre aves infectadas y susceptibles como contacto indirecto, abarcando aerosol (gotitas) o exposición a fómites contaminados con virus. Como las aves infectadas pueden excretar concentraciones elevadas de virus en sus heces, la propagación se logra con facilidad mediante prácticamente cualquier cosa contaminada, como materia fecal, por ejemplo, aves, alimento, agua, equipo, jaulas, ropa, vehículos de entrega, insectos, entre otros. Por lo tanto, los virus se transportan con gran facilidad a otras zonas por medio de personas y equipo contaminado (Capua *et al.*, 2000).

La transmisión del virus de la influenza aviar entre aves ocurre primariamente por la vía fecal-oral. Desde que VIA son depositados en grandes concentraciones en las rutas de migración de las aves, diversos mamíferos pueden infectarse por el contacto directo con las deyecciones depositadas en la tierra o fuentes hídricas, por el consumo directo de aves o huevos infectados, y en el caso del hombre por el contacto vía aereolización de partículas virales (Osorio *et al.*, 2006).

Hay una amplia evidencia de la transmisión horizontal de virus de influenza, pero poca evidencia de que los virus se puedan transmitir de manera vertical. No obstante, debe señalarse que los virus pueden estar presentes dentro o en las superficies de los huevos cuando la gallina está infectada, como se demostró en el brote de Pensilvania logrando aislar la cepa H5N2 de huevos de gallinas. Después de la infección experimental de gallinas con el virus, casi todos los huevos puestos durante los 3-4 días pos infección con el virus (Eckroade y Davison. 1990).

Las vías experimentales de exposición en las cuales se tienen éxito incluyen el aerosol, intranasal, intratraqueal, oral, conjuntiva, intramuscular, intraperitoneal, intracaudal del saco aéreo, intravenosa, cloacal e intracraneal (Hernández *et al.*, 2000).

Un factor que favorece de gran manera la transmisión, son los vientos que propagan, la enfermedad de caseta en caseta y de granja en granja. Un gramo de estiércol contaminado puede contener suficiente virus como para infectar a 1 millón de aves. (Peña *et al.*, 2000).

La IA altamente patógena puede atacar rápidamente a las aves de corral sin ninguna señal de infección; una vez establecida se puede diseminar rápidamente de parvada a parvada (Capua *et al.*, 2000).

1.7 SIGNOS CLÍNICOS DE LA ENFERMEDAD

Los signos de la enfermedad son variables y dependen de la especie afectada, edad, sexo, infecciones concomitantes, virus y factores ambientales (Calnek et al., 2000).

La patogenicidad del virus de influenza, va a determinar su ubicación en el organismo. Los menos patógenos van a atacar el aparato respiratorio superior y a medida que aumenta la patogenicidad se distribuirá en el tracto digestivo, pudiéndose aislar hasta de tejido muscular. Las infecciones pueden variar clínicamente en: subclínicas (no patogénicas), respiratoria aguda y/o urogenital (baja patogenicidad) y enfermedad sistémica severa (alta patogenicidad). Por lo tanto, la IA puede manifestarse como una enfermedad respiratoria, entérica, reproductiva o neurológica (Buscaglia, 2004).

Los virus de IA de baja patogenicidad causan una enfermedad subclínica tan suave que puede pasar desapercibida o ser confundida con bronquitis infecciosa o con una reacción postvacunal. Los virus de mediana patogenicidad causan estornudos dificultad para respirar, tos y baja mortalidad. Los virus de alta patogenicidad producen la forma más grave de la enfermedad conocida en el pasado como “peste aviar”, caracterizada por muerte súbita cercana al 100% (Saume, 2004).

Los signos pueden reflejar anormalidades respiratorias, entéricas, reproductivas o del sistema nervioso; los cuales comprenden depresión, disminución de la actividad, menos ingestión de alimento y emaciación, aumento de cloquera en las gallinas, los signos respiratorios van de grado leve a intenso y comprenden tos, estornudos, estertores y lagrimeo excesivo, Acurrucamiento, plumas erizadas, edema de la cabeza y cara, cianosis de la piel sin plumas, trastornos nerviosos y diarrea; todo estos signos pueden presentarse solos o combinados (Zuluaga, 2006).

En algunos casos la enfermedad es rápidamente fulminante y se encuentran las aves muertas sin signos aparentes (Buscaglia, 2004).

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

- ✓ Muerte repentina sin signos clínicos
- ✓ Falta de energía y apetito
- ✓ Baja producción de huevos
- ✓ Huevos deformes o con cascara blanda
- ✓ Hinchazón de a cabeza, parpados, cresta, carpos y tarsos
- ✓ Decoloración morada en los carpos, cresta y patas
- ✓ Secreción nasal
- ✓ Tos y estornudo
- ✓ Falta de coordinación
- ✓ Diarrea

(Perera *et al.*, 2011).



Fig. 2 Cresta y barbilla edematosas y cianóticas de un pollo con IAAP (Buscaglia, 2004).

El periodo de incubación transcurre desde la infección hasta la presentación de los signos clínicos, este puede variar de horas hasta días y depende de la cantidad de virus circulante, del estado de salud del ave y de la raza de aves

infectadas, aunque se dice que el período de incubación de la Influenza Aviar Altamente Patógena es de 21 días (Vui *et al.*, 2002).

1.8 LESIONES

En muchos casos hay pocas lesiones notables debido a que la enfermedad es leve. En el caso de virus de alta patogenicidad puede no haber lesiones ya que las aves mueren rápidamente antes de que se desarrollen lesiones. Sin embargo, se han descrito una diversidad de alteraciones congestivas, hemorrágicas, transudativa y necrobióticas (Calnek *et al.*, 2000).

Las lesiones que provoca esta enfermedad son muy variables. Las más importantes son; ausencia de lesiones en los casos de muerte súbita, hemorragias equimóticas, particularmente en la unión de la molleja, erosiones y hemorragias en el epitelio de la molleja, hemorragia en tonsilas cecales, enteritis catarral o fibrinosa, nefritis con congestión severa, congestión grave de musculatura, petequias en el interior del esternón, en la grasa serosa y abdominal, en las superficies serosas de la cavidad corporal, peritonitis fibrosa producida por la ruptura de óvulos, inflamación de senos orbitarios, exudación mucosa excesiva en el lumen de la taquea, hemorragias o degeneración en los ovarios, exudados en los oviductos, sinusitis, edema subcutáneo de la cabeza y cuello, secreciones nasal y oral, congestión grave en la conjuntiva, focos hemorrágicos en los tejidos linfoides de la mucosa intestinal (Montalvo *et al.*, 2009).

1.8.1 LESIONES MACROSCÓPICAS

Durante la fase inicial la infección aguda provocaría la muerte con una severa congestión pulmonar, edema y hemorragia. La hemorragia y el edema también pueden afectar otros órganos incluyendo cerebro, párpados, tejido subcutáneo, patas y cualquier superficie serosa. En estudios experimentales después de dos o tres días del periodo de incubación el virus se disemina a través del cuerpo y el antígeno viral puede ser detectado en la mayoría de los órganos,

resultando una necrosis e inflamación multiorgánica. La distribución de las lesiones es dependiente de la cepa del virus y del huésped (Stallknecht *et al.*, 2007).

1.8.2. LESIONES MICROSCÓPICAS

Se encuentran numerosos micro-trombos en los capilares pulmonares. Tempranamente en la infección, el virus se localiza en pulmones y otras células endoteliales. La afección pulmonar se caracteriza por edema de la submucosa, pérdida de los cilios de la superficie epitelial, neumonía exudativa intersticial con congestión y hemorragia y micro-trombos de fibrina en los capilares (Muramoto *et al.*, 2006).

En las infecciones sistémicas pueden ocurrir, hemorragias, apoptosis, necrosis celular e inflamación en los órganos parenquimatosos y los órganos más frecuentemente afectados son corazón, cerebro, bazo, páncreas y glándulas adrenales. Se pueden presentar hemorragias, apoptosis, necrosis celular e inflamación en áreas entéricas linfoides como la salida esofágica proventricular, placas de Seller y tonsilas cecales (Stallknecht *et al.*, 2007).

1.9 PATOGENIA

Comienza con una infección local en el tracto respiratorio superior, el virus se transmite por vía aérea mediante aerosoles, se reproduce en las células de las vías respiratorias, conduciendo a un rápido desencadenamiento del proceso inflamatorio local que se activa secuencialmente, con una importante secreción de citosinas especialmente proinflamatorias, responsables en gran medida del síndrome clínico gripal (Cisterna y Barajas, 2002).

La infección por el virus de influenza es adquirida por un mecanismo que involucra la transferencia de secreciones respiratorias que contienen partículas virales de un individuo infectado a otro susceptible. Gran cantidad de virus está presente en las secreciones del individuo infectado y disponible para ser diseminado a través de pequeñas gotitas (< 10 μm) por medio de estornudos y tos. Además, la naturaleza explosiva e inicio simultáneo de la enfermedad en distintos individuos

sugiere que un solo individuo infectado es capaz de transmitir virus a un gran número de individuos susceptibles. Una vez que el virus es depositado en el epitelio del tracto respiratorio este puede adherirse y penetrarlo. Luego de la adsorción y penetración del virus a las células comienza la replicación viral (Linzitto *et al.*, 2005).

El virus excretado por el animal enfermo penetra por las vías respiratorias superiores y se multiplica rápidamente en las células que infecta, posteriormente se dirige hacia los tramos inferiores de las vías respiratorias e infecta las células bronquiales, lo que provoca diferentes efectos tales como: destrucción del epitelio ciliado, infección de leucocitos mono y polimorfonucleares o la sensibilización a las endotoxinas bacterianas. En infecciones con virus de alta patogenicidad, después de que el virus se replica en el tracto respiratorio y digestivo, se inicia una viremia que permite al virus viajar e infectar a todas las células de huésped (Cantú, *et al.*, 2012).

Debido a la gran variedad de signos que se pueden presentar en la IA, es necesario hacer notar que existen otras enfermedades que se presentan algunos signos que son muy similares a esta, por lo que hay que realizar pruebas para la diferenciación con enfermedades como: cólera aviar agudo, Newcastle en la presentación velogénica, cabeza hinchada, laringotraqueítis infecciosa, bronquitis infecciosa o reacción postvacunal. Para esto se cuenta con una gran gama de pruebas que se pueden realizar para su identificación como son la hemaglutinina, por medio cultivo, aislamiento del virus en embrión de pollo, inmunofluorescencia y ELISA (Calnek *et al.*, 2000).

Influenza aviar de baja patogenicidad (IABP): En pollos, el proceso comienza con la inhalación o ingestión de virus de IAMP o IAAP. Enzimas como la tripsina en células epiteliales respiratorias e intestinales permiten la escisión de la hemaglutinina de superficie lo que lleva múltiples ciclos de replicación en el tracto respiratorio y/o intestinal liberando virus. En pollos, la cavidad nasal es el sitio de replicación inicial (Barnes *et al.*, 2003).

Influenza aviar de mediana patogenicidad (IAMP): En este biotipo de virus la replicación generalmente está limitada al tracto respiratorio e intestinal. La

enfermedad y muerte es provocada más comúnmente por daño respiratorio, especialmente si es acompañada por contaminación secundaria de bacterias. Ocasionalmente los IAMP pueden invadir sistémicamente, replicarse y causar daño en los túbulos renales, acinos pancreáticos, epitelios y otros órganos con células epiteliales con enzimas como la tripsina (Barnes *et al.*, 2003).

Influenza aviar altamente patógeno (IAAP): Con estos virus ocurre una invasión de la submucosa y de los capilares entéricos. La replicación del virus entre las células epiteliales provoca la propagación de estos vía vascular o linfática infectando y replicándose en gran variedad de células de órganos viscerales, cerebro y piel. Alternativamente, después de una extensa replicación en células endoteliales vasculares el virus puede convertirse en sistémico (Barnes *et al.*, 2003).

1. 10 IMPORTANCIA A NIVEL MUNDIAL

La influenza es una de las enfermedades infecciosas que causa mayor carga de enfermedad anualmente en el mundo. La influenza, o gripe, es una enfermedad viral aguda de las vías respiratorias, principalmente de transmisión aérea por secreciones respiratorias. Puede ocasionar pandemias, entendidas como epidemias que afectan un gran número de países, asociados con alta mortalidad, exceso de mortalidad y gran disrupción social y económica (Ropero y Andrus, 2005).

Debemos preocuparnos de la influenza aviar por que el virus puede permanecer por mucho tiempo a bajas temperaturas. La ubicación de las explotaciones avícolas y la cantidad de las mismas en lugares específicos de manera no planificada, hacen que nuestras aves sean altamente susceptibles. La mutación potencial de IA de baja patogenicidad de subtipo H5 Y H7, a influenza aviar de alta patogenicidad, mutante causante de mortalidad en los humanos, siendo considerada actualmente como una de las zoonosis más peligrosas. Es una amenaza para la salud pública, ya que se produce una circulación suficiente entre humanos y animales existe un alto riesgo de que pueda convertirse en un subtipo de virus con potencial pandémico (Saume, 2004).

Un brote de IA altamente patógeno resultaría muy perjudicial y costoso para la industria de aves domésticas, los consumidores y todos los ciudadanos. No solo debemos preocuparnos, sino que es el momento de ocuparnos, lo cual está en manos de la cadena avícola (integraciones avícolas, plantas de alimento, mataderos, laboratorios importadores y/o elaboradores de biológicos, laboratorios de diagnóstico (Saume, 2004).

II. MATERIALES Y METODOS

2.1 Ubicación geográfica

El estudio se realizó en granjas tecnificadas en el municipio de ciudad de lerdo, Durango; el cual se encuentra localizado en las coordenadas: Entre los paralelos 25° 10' y 25° 47' de latitud norte; los meridianos 103° 20' y 103° 59' de longitud oeste; altitud entre 1 100 y 2 900 m, así como también colinda al norte con los municipios de Mapimí y Gómez Palacio; al este con el municipio de Gómez Palacio y el estado de Coahuila de Zaragoza; al sur con el estado de Coahuila de Zaragoza, los municipios de General Simón Bolívar, Cuencamé y Nazas; al oeste con los municipios de Nazas y Mapimí. Con un clima muy seco semicálido con lluvias en verano, con un rango de temperatura de 14-22 C° (INEGI, 2010).

Las muestras fueron tomadas en aves de granjas tecnificadas que están dentro del municipio antes mencionado con el fin de determinar si las aves presentan el virus de la Influenza Aviar.

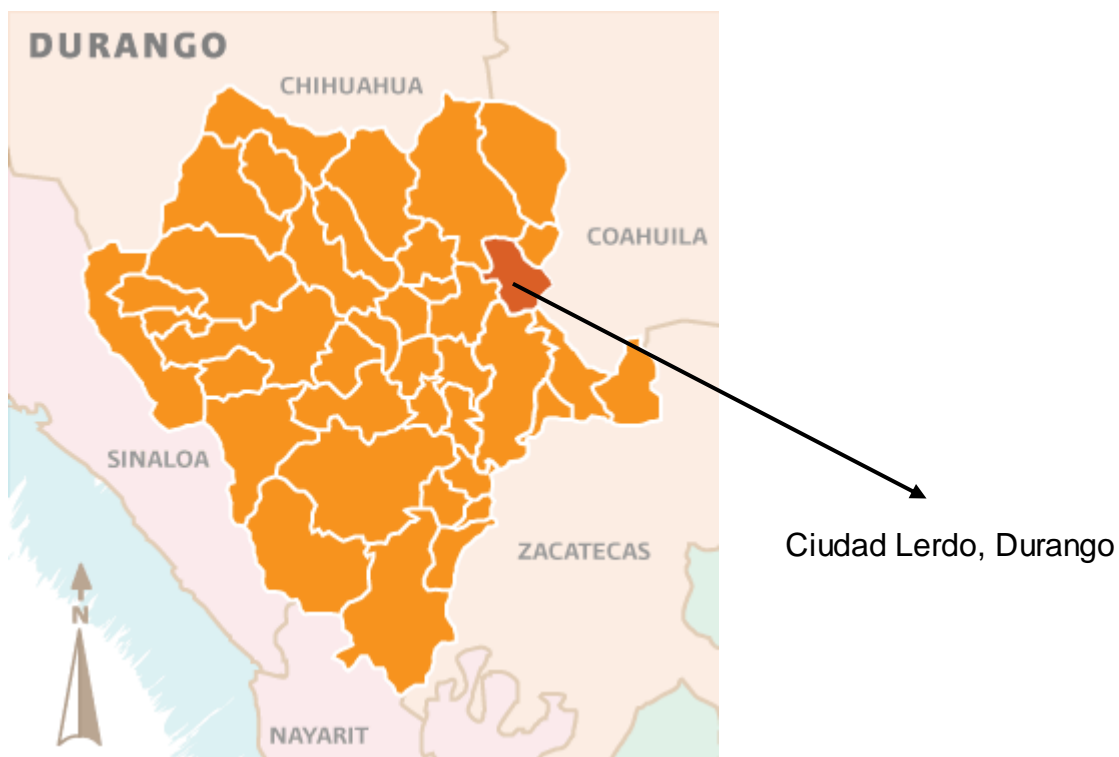


Fig. 3 Ubicación del municipio de Ciudad Lerdo, Durango (INEGI, 2010).

2.2 Norma para la toma de muestras

La Influenza Aviar es una enfermedad de reporte obligatorio, y se encuentra regido por la NORMA Oficial Mexicana NOM-044-ZOO1995, "Campaña Nacional Contra la Influenza Aviar". La cual exige realizar cuando menos dos muestreos por año y las muestras deben ser recolectadas para su envío y análisis al laboratorio de tres formas, para pruebas serológicas se pueden obtener sueros, por medio de tubos de ensayo o a través de papel filtro y para la realización de aislamiento viral se toman órganos y/o hisopos con muestras traqueales o cloacales.

2.3 Norma para el manejo de muestras en el laboratorio (NOM-056-ZOO-1995).

Materiales:

- Aves vivas
- Jeringas estériles
- Hisopos estériles
- Guantes
- Tubos falcón con solución PBS como conservador
- Hieleras de unicel
- Refrigerantes
- Viales
- Overol
- Botas de hule
- Formato: hoja de monitoreo
- Pluma color azul
- Marcador permanente color negro
- Bolsas de plástico transparente con cierre fácil

Procedimiento:

- ✓ Toma de muestras de sangre en aves vivas:

Se obtiene por punción cardíaca, al menos 2 ml, posteriormente se deja coagular y precipitar para extraer el **suero sanguíneo** y depositarlo en viales. El número de muestras a recolectar serán de 30 muestras por granja.



Fig. 4 Toma de muestras de sangre por punción cardíaca

- ✓ Toma de muestra de hisopo cloacal:

Se toman muestras con hisopos estériles, se realiza en la parte de la cloaca del ave introduciendo un hisopo realizando un frote ligero extrayendo material fecal, una vez obtenida la muestra se deposita en tubos con solución PBS para conservación. El número de muestras a recolectar serán de 30 muestras por granja. Al obtener las muestras se dejan reposando en una hielera que en su interior contiene refrigerantes.

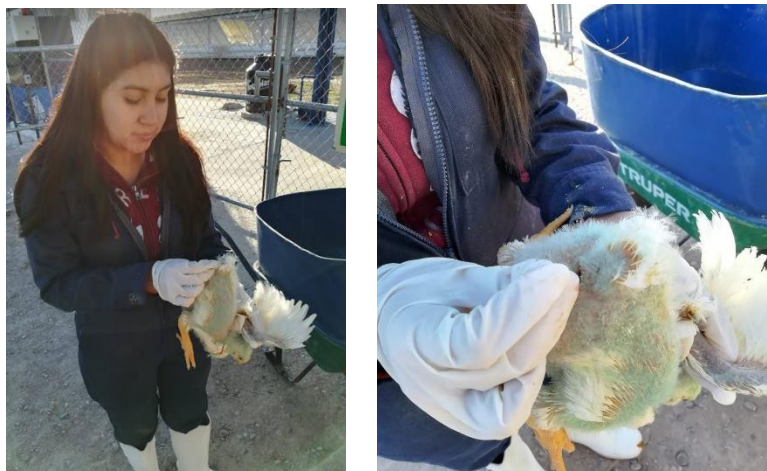


Fig. 5 Toma de muestras de hisopos cloacales

Envío de muestras

Las muestras obtenidas se identifican en el formato: hoja de monitoreo la cual lleva los siguientes datos:

- Nombre de la granja (estado y municipio en donde se encuentra)
- Número de lote y parvada
- Cantidad de aves al inicio de la parvada
- Cantidad actual de aves vivas en la parvada
- Edad de las aves
- Sexo (macho ligero, macho pigmentado, hembra)

Esto con el fin de llevar un control de las granjas monitoreadas, así como también para ingresarlas al (DINESA) dispositivo nacional de emergencia de sanidad animal, para así obtener el número de caso al que corresponde cada granja. Después se procede a colocar las muestras en las bolsas de plástico transparentes con cierre fácil, identificando el nombre de la granja y las muestras enviadas.

- ✓ Las muestras obtenidas de suero sanguíneo se envían al laboratorio de la comisión México-Estados Unidos para la prevención de la fiebre aftosa y otras enfermedades exóticas de los animales (CPA), ubicado en la ciudad de Torreón. Coahuila.
- ✓ Las muestras obtenidas de hisopos cloacales son enviadas al laboratorio de Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), localizado en la ciudad de Gómez Palacio, Durango.

Se envían en hieleras de unicel previamente identificadas con refrigerantes a los laboratorios antes mencionados.



Fig. 6 Envío de muestras a los laboratorios correspondientes

Para el diagnóstico del virus de influenza aviar se utilizan las siguientes técnicas:

- ✓ Inhibición de la hemaglutinación (IH)
- ✓ Transcripción reversa de la reacción en cadena de la polimerasa tiempo real (RT-PCR)

Las pruebas de laboratorio se describen a continuación:

La inhibición de la hemaglutinación, es la interacción de anticuerpos específicos con la hemaglutinina homologa del virus de la Influenza Aviar evitando la aglutinación de los eritrocitos del pollo. La detección de anticuerpos contra el virus de la IA en las aves, es un indicador confiable de que las aves han sido expuestas a antígenos propios del virus, ya sea mediante de infección natural o promedios artificiales a través de la vacunación. Se basa en la capacidad de los anticuerpos presentes en el suero de unirse a la hemaglutinina vírica y evitar la aglutinación de eritrocitos de pollos por el virus. Es una prueba cuantitativa que permite determinar el título de anticuerpos en el suero (Perera *et al* 2011).

Se consideran positivos los sueros que produzcan inhibición de la hemaglutinación franca de una dilución 1:10. Se deberá efectuar la titulación de las muestras que resulten positivas en la prueba para determinar el punto final de la reacción de inhibición de la hemaglutinación, realizando la prueba nuevamente con un número mayor de diluciones dobles seriadas. Se considera sospechosos los sueros que produzcan inhibición de la hemaglutinación franca en la dilución 1:10. Se determinan negativos los sueros que no produzcan inhibición de la hemaglutinación o que la produzcan en diluciones iguales o menores a 1:4.

Una vez identificado un aislado del virus de la IA es necesario determinar su virulencia o patogenicidad para los pollos, sobre todo con los serotipos H5 y H7, que son los que pueden provocar la IAAP. Para la determinación de la patogenicidad se utiliza el método de RT-PCR y secuenciación de ácidos nucleicos del segmento del gen de la H que codifica el sitio de procesamiento proteolítico de la hemaglutinina. La presencia de múltiples aminoácidos básicos en este sitio se relaciona con las cepas altamente patógena de los serotipos H5 y H7 (Zamora *et al.*, 2008).

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizó un monitoreo en granjas de aves de engorda, utilizando aves centinelas en el municipio de Ciudad Lerdo, Durango, para determinar la presencia del virus de influenza aviar de alta patogenicidad utilizando como pruebas de diagnóstico, Inhibición de la hemaglutinación (IHA) y transcripción reversa de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR). Durante en el proceso de trabajo de campo se realizaron muestreos en 56 granjas en las cuales se recolecto un total de 1,680 muestras de sueros sanguíneos y 1,680 hisopos cloacales, tomadas en el periodo comprendido de agosto a diciembre de 2018.

Todas las muestras fueron analizadas por en los laboratorios correspondientes es decir los sueros sanguíneos se envían al laboratorio de la comisión México-Estados Unidos para la prevención de la fiebre aftosa y otras enfermedades exóticas de los animales (CPA), ubicado en la ciudad de Torreón. Coahuila y a lo que corresponde a las muestras obtenidas de hisopos cloacales son enviadas al laboratorio de Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), localizado en la ciudad de Gómez Palacio, Durango.

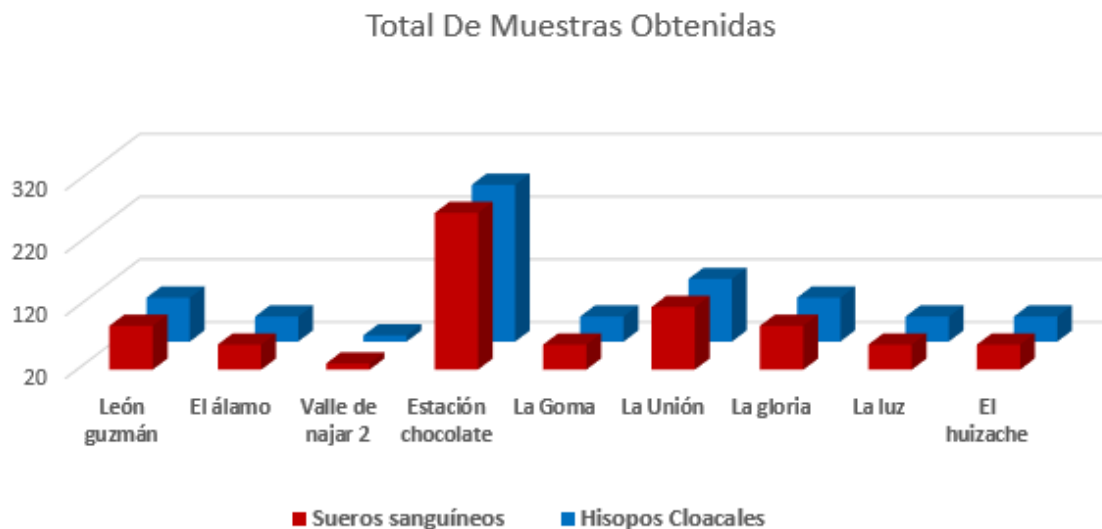


Fig. 7 Total de muestras obtenidas en los ejidos pertenecientes al municipio de Ciudad Lerdo, Durango

Cuadro 3. Resultados de las pruebas de inhibición de la hemaglutinación y PCR

EJIDOS	1°			2°		
	MUESTREO	POSITIVAS	NEGATIVAS	MUESTREO	POSITIVAS	NEGATIVAS
León guzmán	90	0	90	90	0	90
El álamo	60	0	60	60	0	60
Valle de najar	30	0	30	30	0	30
2						
Estación chocolate	270	0	270	270	0	270
La Goma	60	0	60	60	0	60
La Unión	120	0	120	120	0	120
La gloria	90	0	90	90	0	90
La luz	60	0	60	60	0	60
El huizache	60	0	60	60	0	60
Total	840	0	840	840	0	840

Tal como se observa en el cuadro 3, de un total de 1,680 muestras de sueros sanguíneos y 1,680 de hisopos cloacales tomados en dos muestreos, es decir 840 por cada muestreo, todas las muestras obtuvieron un resultado negativo a la presencia del virus de influenza aviar.

Teniendo como resultado que todas las muestras analizadas fueron consideradas **negativas** al virus de influenza aviar de alta patogenicidad. Con el resultado obtenido de este trabajo, se confirma que las aves que se encuentran en las granjas tecnificadas de pollo de engorda, de Ciudad Lerdo, Durango, se encuentran libres del virus de la Influenza Aviar.

IV. CONCLUSIÓN

Con el resultado obtenido de este trabajo, y considerando la literatura anteriormente citada se puede considerar que las granjas tecnificadas de pollo de engorda, ubicadas en el municipio de Ciudad Lerdo, Durango, se encuentran libres del virus de influenza aviar altamente patógeno H5. Esto se debe a que las granjas cuentan con buenas medidas de bioseguridad lo cual es de suma importancia para evitar así que el virus que provoca la enfermedad de influenza aviar afecte a las explotaciones avícolas.

Los métodos de análisis utilizados para la determinación del virus fueron por inhibición de la hemaglutinación (IH) para los sueros sanguíneos y PCR para hisopos cloacales, son realizados en laboratorios oficiales de SENASICA y CPA para así obtener un correcto diagnóstico de dicha enfermedad

Se recomienda que en próximos estudios que se realicen para determinar la presencia de este virus se pueda agregar un mayor número de monitoreos, es decir que se realice un muestreo más amplio, para con ello tener una extensión más amplia de resultados.

LITERATURA CITADA

- Aparicio, H. M., Cea, U., Floristán, E., López, T., Sánchez, M. I. 2005. La gripe aviar ¿un problema? *Veterinary Microbiology*. 4:1-53.
- Barnes, H. J., Glisson, J. R., Fadly, A. M., Dougald, L. R., Swayne, D. E. 2003. Role of the influenza virus M1 protein in nuclear export of viral ribonucleoproteins. *Journal of Virology*. 74:1781–1786.
- Buscaglia, C. 2004. Influenza aviar. Facultad de ciencias veterinarias. Universidad nacional de la plata. *InVet*. 6(1):71-84.
- Calnek, B. W., Barnes, H. J., Beard, C. W., McDonald, L. R., Saif, M. 2000. Enfermedades de las aves. 2 ed. Manual moderna. México. pp. 597-614.
- Capua, I. F., Mutinelli, M. A., Bozza, C. 2000. High Pathogenic avian influenza (H7N1) in ostriches. *Avian pathology*. pp. 643-646.
- Cantú, L. A., Castillo, M. M., Galván, L. N. 2013. Situación de la influenza aviar causada por el virus H7N3 en México. *Microbiology and Immunology*. 3(1):3-6.
- Casillo, V. E., Godoy, V. S., Escorcia, M. 2017. Evaluación de la presencia de receptores celulares al virus de Influenza Aviar en oviductos de aves sujetas a muda forzada usando inmunofluorescencia. *Veterinaria México*. 4(1):9-19.
- Cedo, R. 2001. Bioseguridad en granjas. Jornadas profesionales de producción de carne de pollo, Arenys de Mar. *Selecciones avícolas*. In *Vet*. 100-103.
- Cisterna, R., Barajas, M. 2002. patogenia del virus gripal en el tracto respiratorio. *InVet*. 3(1):5-8.
- Cox, N. J., Subbarao, K. 2000. Global epidemiology of influenza: past and present. *Annu. Rev. Med*. 51:407-421.
- Eckroade, R. J., Davison, S. A. 1990. Influenza: epidemiología e impacto sobre la industria avícola mundial. Athens Georgia. pp. 261-274.

- García, G. J., Medina, A. P., Sarfati, M. D., Soto, P. E., Lozano, D. B. 2002. Impacto económico y riesgo sanitario de un país por influenza aviar. *Annu. Rev. Med.* pp.89-95.
- García, G. J., Ramos, C. 2006. La influenza, un problema vigente de salud pública. *Salud pública de México.* 48(3):244-267.
- Gurria, T. F. 2000. Situación de la influenza aviar en México. *Veterinaria México.* 3(2): 2-9.
- Hernández, M. A., Casaubon, A. T., García, G. J. 2000. Patogenia del virus de influenza aviar (H5N2) altamente patógeno en aves susceptibles y en aves inmunizadas. *J Exp Med.* 54:102-113.
- Horimoto, T. Kawaoka, Y. 2001. Pandemic threat posed by avian influenza a Viruses. *Clinical Microbiology reviews.* 14(1):129-149.
- Instituto nacional de estadística, geografía e información (INEGI). 2010. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Ciudad Lerdo, Durango. [En línea]. http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/10/10012.pdf. (Fecha de consulta 20/noviembre/2018).
- Jiménez, S. C. 2007. Influenza aviar: etiología, epidemiología, vacunas y riesgo de pandemia, *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 15 (1): 104-109.
- Jordann, F. T., Pattison, M. 1998. Enfermedades de las aves. 3 ed. Manual moderno. México. pp. 151-159.
- Linzitto, O. R., Espinoza, C., Rodríguez, C. A., Pecoraro, M. 2005. Reseña sobre vigilancia y prevención de la influenza aviar y rol zoonótico. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana.* 39(4):485-492.
- Meede, S. L., Cenicerros, R. M., Téllez, I. G. 2001. Influenza aviar en México: estudio recapitulatorio. XXVI Convención anual ANECA. International. Cancún, México. pp.57-61.

- Norma Oficial Mexicana NOM-044-ZOO-1995. Campaña nacional contra la influenza aviar
- Montalvo, C. M., Reséndiz, M., Santos, L. G., Vallejo, R. V., Reyes, L. J., Hernández, J. 2009. Estandarización de un método de detección molecular del virus influenza (H5N1) de alta patogenicidad. *Acta Bioquím Clín Latinoam.* 43(1): 49-52.
- Muramoto, Y., Ozaki, H., Takada, A., Park, C., Sunden, Y., Umemura, T., Kawaoka, Y., Matsuda, H., Kida, H. 2006. Highly Pathogenic H5N1 Influenza Virus Causes Coagulopathy in Chickens. *Microbiology and Immunology.* 50:73-81.
- Organización mundial de sanidad animal (OIE). 2018. Influenza aviar. [En línea]. <http://www.oie.int/es/sanidad-animal-en-el-mundo/portal-sobre-la-influenza-aviar/>. (Fecha de consulta 10/Octubre/2018).
- Organización mundial de sanidad animal (OIE). 2019. Actualización sobre la influenza aviar en animales (tipos H5 y H7). [En línea]. <http://www.oie.int/es/sanidad-animal-en-el-mundo/actualizacion-sobre-la-influenza-aviar/2019/>. (Fecha de consulta 20/febrero/2019).
- Osores, P. F., Cabezas, C., Gómez, J., Maguiña, C. 2006. Influenza humana y aviar: amenaza de una pandemia humana. *Acta Med Per.* 23(1):35-47.
- Pearson, J. E. 2004. Criterio para la caracterización del virus de la influenza aviar para la toma de acciones reguladoras. ANECA. pp:29-34.
- Perera, C. L., Díaz, H. A., Pérez, L. J. 2011. Actualización y perspectivas en el diagnóstico del virus de la influenza aviar. *Rev. Salud Anim.* 33(1):1-7.
- Pérez, P. I., Casas, R. 2004. Infecciones producidas por los virus de la gripe aviar A (H5N1) en las poblaciones de aves en el sudeste asiático y en la especie humana. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 22(7):412-418.
- Peña, G., Fierros, G., Mateos, A. 2000. Enfermadas exóticas de los animales, influenza aviar altamente patógena. *InVet.* 13:56- 62.

- Repetto, G. D. 2006. Influenza humana y aviaria: pasado, presente y futuro. Rev. Chil. Pediatr. 77 (1):12-19.
- Ropero, A. M. Andrus, J. 2005. Consideraciones para la vacunación en caso de una pandemia de influenza. Journal of Virology. 8(3):91-96.
- Saume, E. 2004. Influenza aviar ¿por qué debemos preocuparnos? InVet. 51:407-421.
- Servicio nacional de sanidad, inocuidad y calidad agroalimentaria (SENASICA). 2006. Dirección general de salud animal. Consideraciones sobre la influenza aviar. [En línea]. <https://www.gob.mx/senasica/acciones-y-programas/campana-nacional-para-la-prevencion-control-y-erradicacion-de-la-influenza-aviar-notificable>. (Fecha de consulta 20/noviembre /2018).
- Servicio nacional de sanidad, inocuidad y calidad agroalimentaria (SENASICA). 2012. Ponencia Sanidad: Influenza Aviar. [En línea]. <https://www.gob.mx/senasica/prensa/ponencia-sanidad-influenza-aviar>. (Fecha de consulta 24/noviembre/2018).
- Servicio nacional de sanidad, inocuidad y calidad agroalimentaria (SENASICA). 2018. Influenza aviar de alta patogenicidad. [En línea]. <https://www.gob.mx/senasica/prensa/presenta-senasica-libros-sobre-dos-casos-de-exito-en-sanidad-animal-174806>. (Fecha de consulta 18/octubre/2018).
- Soda, K., Cheng, M., Yoshida, H., Endo, M., Lee, S., Okamatsu, M., Sakoda, Y., Wang, C., Kida, H. 2011. A low Pathogenic H5N2 influenza virus Isolated in Taiwan Acquired High Pathogenicity by consecutive Passages in Chickens. J. Vet. Med. Sci. 73(6):767-772.
- Stallknecht, D. E., Nagy, E., Hunter, D., Slemons, R. 2007. Avian influenza. En: Infectious Diseases of Wild Birds. Acta Bioquím Clín Latinoam. 21(3):109-123.

- Vui, T. Q., Lohr, J. E., Kyule, M. N., Zessin, K. H., Baumann, M. P. 2002. Antibody Levels against Newcastle Disease Virus, infectious Bursal disease virus and Avian Influenza Virus in Rural Chickens in Viet Nam. *International Journal of Poultry Science*. 1(5):127-132.
- Zamora, P. A., Percedo, M. I., Abeledo, A. M., Noda, J. H. 2008. Algunas pautas para establecer una estrategia de vigilancia epidemiológica de la influenza aviar. *Rev. Salud Anim.*30 (2):69-77.
- Zuluaga, T. F. 2006. La temible influenza aviar. *Revista colombiana de ciencias pecuarias*. 19(1):9-10.