

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



Muestreo de granjas avícolas para la identificación de los subtipos H5 y H7 de influenza aviar en La Región Lagunera de Coahuila.

Por:

JOHN BRIAN MORALES DE LA CRUZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México

Junio 2018

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

Muestreo de granjas avícolas para la identificación de los subtipos H5 y H7 de
influenza aviar en La Región Lagunera de Coahuila.

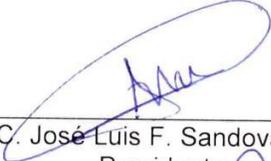
Por:

JOHN BRIAN MORALES DE LA CRUZ

TESIS

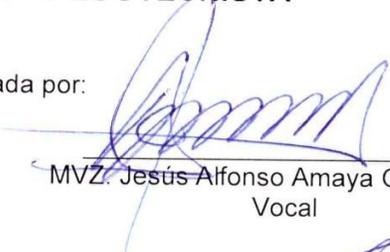
Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial
para obtener el título de:

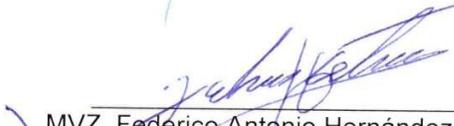
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA


MC. José Luis F. Sandoval Elías
Presidente


MVZ. Carlos Raúl Rascón Díaz
Vocal

Aprobada por:


MVZ. Jesús Alfonso Amaya González
Vocal


MVZ. Federico Antonio Hernández Torres
Vocal Suplente


MVZ. J. Guadalupe Rodríguez Martínez
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal

Torreón, Coahuila, México
Junio 2018


Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal

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

Muestreo de granjas avícolas para la identificación de los subtipos H5 y H7 de
influenza aviar en La Región Lagunera de Coahuila.

Por:

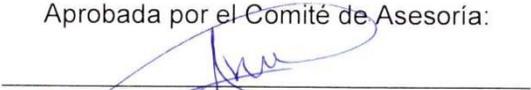
JOHN BRIAN MORALES DE LA CRUZ

TESIS

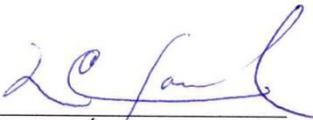
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

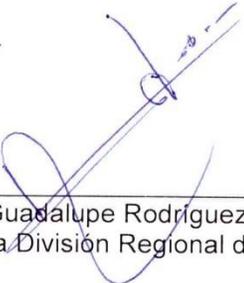
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por el Comité de Asesoría:


MC. José Luis F. Sandoval Elías
Asesor Principal


MC. Ernesto Martínez Aranda
Coasesor


MC. Rafael Ávila Cisneros
Coasesor


MVZ. J. Guadalupe Rodríguez Martínez
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal


Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal

Torreón, Coahuila, México
Junio 2018

Agradecimientos

A MIS PADRES

Por ayudarme en mi carrera y darme todo sin nada a cambio y por ayudar a que cumpliera mí sueño.

A MI ALMA TERRA MATER

Por haberme brindado la oportunidad de haber sido parte de ella y darme las herramientas para poder ser un profesionista.

A MIS ASESORES

MC. José Luis Francisco Sandoval Elías por su gran apoyo, asesoramiento para la realización de esta tesis sobre todo por sus consejos así como por su amistad

M.C. Ernesto Martínez Aranda por su enseñanza, comentarios, corrección para el desarrollo de esta tesis, y confianza brindada

MC. Rafael Ávila Cisneros por su gran apoyo incondicional para terminar mi carrera, sobre todo por su gran amistad y grandes consejos.

Dedicatorias

A MIS PAPAS Margarita Aurora de la Cruz Trujillo, por haberme dado la vida y por ser la mujer más maravillosa por que día a día se preocupó por mí, por darme todo sin condiciones y por darme buenos consejos para ser una persona de valor y por que estoy orgulloso de ser su hijo, gracias mama por existir y ser mi madre. Dios te bendiga y te guarde siempre con mucho amor y cariño le dedico todo mi esfuerzo y trabajo puesto para la realización de esta tesis. TE AMO MAMA. Agustín Martínez Onofre, por ser un gran padre y ser un buen ejemplo y darme todo sin condiciones, por enseñarme a respetar y ser respetado, por tu apoyo en todo momento, gracias por ser mi padre y estoy orgulloso de que lo seas. Dios te bendiga y te cuide mucho. TE AMO PADRE.

A MI HERMANO Oscar Rolando Morales Jr. Gracias por estar en todo momento conmigo, por comprenderme y apoyarme en mis estudios e impulsarme a lograr mi objetivo, gracias hermano por tu amor y cariño.

DR. PEDRO ANTONIO ROBLES TRILLO.

Por ayudarme en mi carrera y poder terminarla en especial por los consejos y el apoyo que en todo momento me brindo muchas gracias.

A TODOS LOS MAESTROS

Que fueron parte para la formación de mi carrera y que tuvieron influencia a lo largo de está, ya sea con su apoyo moral y/o social que para mi lo poco ó mucho asido parte fundamental para concluir mi meta. Dios los bendiga hoy y siempre

M.V.Z MARIO GUEVARA ACOSTA

Mis mas sinceros agradecimientos quien con su ayuda desinteresada, nos brindó información relevante, próxima, pero muy cercana a la realidad de nuestras necesidades y por sobre todo su gran amistad

A TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE ME BRINDARON SU AYUDA

A los muchachos de la entidad de CPA, Los laboratorios y empresas afiliadas cuáles plasmaron nuestros resultados investigativos en diseños originales, atractivos y de gran realce para el éxito del proyecto

A MIS AMIGOS

Gracias por la amistad que me brindaron, por su compañía, por los momentos maravillosos que compartimos y sobretodo porque hicimos una bonita familia y gracias por los logros que hicimos juntos.

A MIS COMPAÑEROS DE PRACTICAS PROFESIONALES

Por último a mis compañeros de practicas porque en esta armonía grupal lo hemos logrado y estuvieron a mi lado durante mi experimento de tesis en CPA.

0. Resumen

La influenza aviar se presenta en todas Aves silvestres y domesticas en algunas presentaciones puede afectar a mamíferos menores y llega a afectar a explotaciones de producción, también afecta la economía y en gran cantidad el consumo de la alimentación en la región, se procedió a tomar muestras de suero e hisopo cloacal para la revisión de bioseguridad y también revisión de la normatividad adecuada para presentar un tema de interés social de la región que establezca la incidencia de alguna enfermedad en mayor rango e informarle sobre la importancia de tener monitoreo para que una enfermedad no tenga porcentajes altos sobre propagación. Tomando en cuenta la seguridad y lo importante que es tener un monitoreo adecuado sobre los distintos tipos de explotación de granjas avícolas tomando la Región Lagunera de Coahuila como principio de revisión a supervisar como se previene un posible brote de enfermedad y llevando las muestras al laboratorio para confirmar sospechas con la prueba de inhibición de la hemaglutinación (IA) y como proceder en caso de un posible brote y como actuara la granja y CPA.

Palabras Clave: influenza aviar, monitoreo, granjas avícolas

INDICE

Contenido

Agradecimientos	i
Dedicatorias	ii
0. Resumen	iv
1. Introducción	1
2. Antecedentes de la enfermedad	2
3. Clasificación de la cepa	4
3.1 Clasificación del virus en base a las glicoproteínas	4
3.2 Clasificación del virus en base a su patogenicidad	4
4. Descripción del virus	5
5. Transmisión del virus	6
6. Signos clínicos de la enfermedad	7
7. Patogenia de la enfermedad	8
8. Importancia a nivel mundial	9
9. Materiales y métodos	11
10. Norma para la toma de muestras	12
11. Acuerdo para la toma de muestras	13
12. Procedimiento para la toma de muestras de aves	14
12. 1 Consideraciones generales para el sangrado de las aves	14
12. 2 Técnicas para la punción de la vena braquial	14
12. 3 Selección de las aves a muestrear	15
13. Extracción de muestras	15

14. Forma de envío.....	16
15. Descripción de la prueba de laboratorio.....	17
16. Equipo, instrumentos, reactivos requeridos para el diagnóstico	17
16. 1 Equipo e instrumentos.....	17
16. 2 Reactivos	18
17. Titulación del antígeno.....	19
18. Procedimiento de la prueba de inhibición de la hemaglutinación	20
19. Interpretación de resultados	21
20. Diagrama de flujo para el diagnóstico serológico y virológico de la influenza aviar ...	22
21. Resultados y discusión	23
22. Conclusiones	25
23. Literatura citada.....	25

1. Introducción

La influenza aviar, causada por el virus de la influenza aviar tipo "A" puede afectar varias especies avícolas para el consumo (pollos, pavos, codornices, gallina de guinea, etc.), así como aves de compañía y aves silvestres y algunas cepas pueden ocasionar altas tasas de mortalidad. El virus también se ha aislado en algunas especies de mamíferos incluidos humanos, ratas y ratones, comadreja y hurones, cerdos, gatos, tigres y perros. (OIE., 2014).

En 1997 se identificaron en Hong-Kong varios casos de infección del tracto respiratorio superior en seres humanos. El progreso de la infección fue refractario a muchas formas de aproximación terapéutica y usualmente era letal. El agente causal fue un virus, sorprendentemente un virus de la gripe, y asombrosamente era un novedoso virus de la gripe aviar (gripe aviar altamente patógena H5N1), el cual desempeñaba el papel principal en esta ocasión. Para controlar esta infección los criadores rurales sacrificaron más de 100 millones de pájaros (P.K. Chan., 2002).

Existen varias cepas de virus de la influenza aviar que suelen clasificarse en 2 categorías: influenza aviar poco patógena, que produce pocos signos clínicos o ninguno en las aves; e influenza aviar altamente patógena, que produce signos clínicos graves y/o de alta mortalidad (Swayne DE., 2008).

La influenza aviar está incluida en la lista de enfermedades del Código Sanitario para los Animales terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal. La declaración obligatoria a la OIE concierne dos subtipos en particular: H5N1 Y H7N1 conforme al Código Sanitario para los Animales terrestres de la OIE (P. Fernández, W. White; Ed.: 2011).

El virus de la influenza pertenece a la familia Orthomyxoviridae y se clasifica con base a sus diferencias antigénicas en la nucleoproteína (NP) y en la proteína matriz (MA) en los tipos: A, B, y C. Las partículas de los virus están constituidas por una bicapa lipídica que se deriva de la célula huésped, en donde se encuentran embebidas las glicoproteínas

HA (en mayor proporción), NA y la proteína MA, la proteína Matriz forma una capa interna (Memorias, 8 Reunión AVEM, Queretaro, Mex. 2015)

Según las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud, la muestra óptima para la detección del virus de la gripe A es un aspirado nasofaríngeo obtenido en el plazo de tres días desde el inicio de los síntomas. Hay tres métodos principales para detectar partículas o la infección viral en un individuo determinado: la detección del antígeno, el cultivo del virus y el análisis de la reacción en cadena de la polimerasa (en tiempo real) (Montalvo-Corralv., et. al. 2009).

Las explotaciones avícolas en la región lagunera son de mucha importancia, por el gran número de granjas avícolas con las que cuentan por lo que tener un control sobre estas granjas es lo que justifica este muestreo en dichas granjas. Se realizó un muestreo en granjas avícolas en los municipios de Francisco I. Madero, Viesca, Torreón. San Pedro y Matamoros con el fin de confirmar la posible presencia del virus de influenza aviar

2. Antecedentes de la enfermedad

El virus H5N1 de la peste aviar o influenza aviar altamente patógena (HPAI) existe desde 1996. Sin embargo, la verdadera crisis en Asia comenzó a principios de 2004, cuando se declaró en forma casi simultánea en más de 10 países, provocando la muerte de cientos de miles de pollos y patos. Hasta la fecha se han registrado más de 100 casos en seres humanos y más de 140 millones de muertes o descartes de aves. En 1997 se identificaron en Hong-Kong varios casos de infección del tracto respiratorio superior en seres humanos. El progreso de la infección fue refractario a muchas formas de aproximación terapéutica y usualmente era letal. El agente causal fue un virus, sorprendentemente un virus de la gripe, y asombrosamente era un novedoso virus de la gripe aviar (gripe aviar altamente patógena H5N1), el cual desempeñaba el papel principal en esta ocasión. Para controlar esta infección los criadores rurales sacrificaron más de 100 millones de pájaros (P.K. Chan., 2002).

Durante el siglo XX la aparición de nuevos subtipos de virus de gripe A causó tres pandemias, las cuales se extendieron por todo el mundo antes que transcurriera un año de haber sido detectadas:

- 1918-19: La “gripe española” [A (H1N1)], provocó la mayor cantidad de muertes por gripe que se conoce: más de 500,000 personas murieron en los Estados Unidos y puede que hasta 50 millones de personas hayan fallecido en todo el mundo. Muchas personas murieron durante los primeros días después de infectarse mientras que otras fallecieron posteriormente como consecuencia de complicaciones. Aproximadamente el 50% de los muertos eran adultos jóvenes y sanos. Los virus de la gripe A (H1N1) aún circulan hoy día después de su reintroducción en la población humana en la década de 1970.
- 1957-58: La “gripe asiática” [A (H2N2)] provocó aproximadamente 70,000 muertes en los Estados Unidos y entre uno a cuatro millones en el mundo. Identificada por primera vez en China a fines de febrero de 1957, la gripe asiática llegó a los Estados Unidos en junio de 1957.
- 1968-69: La “gripe de Hong Kong” [A (H3N2)] provocó aproximadamente 34,000 muertes en los Estados Unidos y aproximadamente 700,000 en el mundo. Este virus fue detectado por primera vez en Hong Kong a comienzos de 1968 y llegó a los Estados Unidos un poco después ese mismo año. Los virus de gripe A (H3N2) aún circulan en la actualidad. (Centro para el Control y Prevención de Enfermedades, CDC, 8 de marzo de 2006)

La enfermedad no tiene precedentes en cuanto a su difusión geográfica y su enorme impacto social y económico. Las pérdidas económicas del sector de las aves de corral en Asia se estiman aproximadamente en 10.000 millones de dólares EE.UU. (FAO, 2018, Avian issues)

3. Clasificación de la cepa

3.1 Clasificación del virus en base a las glicoproteínas

Las dos glico-proteínas de la superficie del virus, hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA), son las que permiten su clasificación, de las cuales se han reconocido hasta el presente 16 tipos de proteínas de HA (hemaglutinina) y 9 tipos de proteínas NA (neuraminidasa) distintos antigénicamente, teniendo cada subtipo de virus A, una HA y NA, aparentemente en cualquier combinación. Para identificar la HA y la NA de un virus, se somete el aislamiento a pruebas de inhibición de la hemoaglutinina (IH) e inhibición de las neuroaminidasas (IN) con el uso de un panel de antisueros específicos para los distintos subtipos. Casi todos los virus de Influenza A conocidos, han sido aislados de las aves y algunos de mamíferos. Estudios filogenéticos y de ecología de los virus de Influenza tipo A demuestran que las aves acuáticas silvestres son el reservorio y la fuente de estos virus para las otras especies. (PANAMÁ, 2007).

3.2 Clasificación del virus en base a su patogenicidad

Esta clasificación se da en base al grado de morbilidad que se presenta en un brote de IA, esta se divide en Influenza Aviar de alta patogenicidad o de Influenza Aviar de baja patogenicidad. La expresión IAAP indica la patogenicidad en los pollos e implica la intervención de cepas del virus altamente patógenas. Se utiliza para describir una enfermedad de las aves plenamente susceptibles con signos clínicos que pueden consistir en uno o más. La expresión utilizada clásicamente “peste aviar” se ha abandonado para dar paso a la expresión más exacta de IAAP. Dado que todos los virus naturales de la IAAP conocidos hasta hoy han sido de los subtipos H5 y H7, y que estudios genómicos han determinado que los virus de la IAAP derivan de una mutación de los virus de la IALP H5/H7, todos los virus de la IALP H5/H7 (Manual terrestre OIE, 2015).

La OIE ha adoptado los siguientes criterios para determinar la patogenicidad de virus de la influenza tipo A: a) Se utiliza uno de los dos métodos siguientes para determinar la patogenicidad en los pollos. Un virus influenza tipo A de alta patogenicidad es:

b) Cualquier virus influenza tipo A que sea letal para seis, siete u ocho pollos susceptibles de 4–8 semanas de edad dentro de los 10 días posteriores a la inoculación intravenosa de 0,2 ml de una dilución a 1/10 de líquido alantoideo infectivo libre de bacterias o ii) Cualquier virus que tenga un índice de patogenicidad intravenosa (IPIV) de 1,2 o superior. El procedimiento de cálculo del IPIV es el siguiente:

- Se diluye a 1/10 en solución salina estéril isotónico el líquido alantoideo infectivo fresco con un título de HA $>1/16$ (>24 o $> \log_2 4$ expresado como el inverso).
- Se inyectan por vía intravenosa 0,1 ml del virus diluido a diez pollos susceptibles SAN de 6 semanas de edad; siempre que sea posible deben utilizarse pollos SPF (libres de patógenos específicos).
- Las aves se examinan en intervalos de 24 horas durante 10 días. Durante cada observación, cada ave se puntúa como 0 si se encuentra normal, 1 si está enferma, 2 si está muy enferma, y 3 si se ha muerto.(http://www.offlu.net/fileadmin/home/en/resource-centre/pdf/Influenza_A_Cleavage_Sites.pdf)

La HA en si, 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 lleva a cabo por medio de las proteasas, depende directamente del número de aminoácidos y son sensibles a enzimas similares a la tripsina, limitándose así al tracto respiratorio y digestivo (Pearson, 1994)

4. Descripción del virus

El virus de la influenza pertenece a la familia Orthomyxoviridae, es un virus RNA segmentado y envuelto. De acuerdo a sus nucleoproteínas y proteínas matrices se clasifican en tres tipos: A, B y C. A su vez, atendiendo a sus dos antígenos de superficie, hemoaglutinina (H) y neuraminidasa (N), se clasifican en subtipos. Los virus de la

influenza aislados de aves pertenecen sin excepción al tipo A y contienen todos los subtipos hasta ahora conocidos (16 H y 9 N) en las más variadas combinaciones. Entre los virus de la influenza de las aves y de los mamíferos existen relaciones de parentesco antigénico. Estos virus exhiben una gran variabilidad antigénica y capacidad de mutación, así como un amplio espectro de virulencia. No hay correlación entre la virulencia y el subtipo antigénico, porque las formas virulentas y avirulentas pueden pertenecer a un mismo subtipo. Las variaciones de los antígenos principales H y N son las causas de los cambios en la epizootiología de la influenza tipo A. (Senasa, 2018)

5. Transmisión del virus

El reservorio natural del virus influenza A H5N1 son las aves migratorias (en particular, los patos), en las que la infección por este virus no suele producir ninguna enfermedad. Las aves migratorias infectadas acarrean el virus en el aparato digestivo, desde donde se elimina por la saliva, las secreciones nasales y por las heces. Las aves domésticas de corral (pollos, gallinas, pavos) se infectan con el virus influenza A H5N1 al entrar en contacto con las heces y las secreciones de las aves migratorias (Calnek B. W., 1999.) El virus influenza A H5N1 es muy contagioso para las aves domésticas entre las que produce verdaderas epidemias con una elevadísima mortalidad. Es durante estas epidemias entre las aves domésticas cuando el virus H5N1 puede infectar a los humanos. De hecho, todos los casos de gripe aviar en humanos por el virus influenza A H5N1 han coincidido en el tiempo con epidemias de infección de las aves domésticas por este virus. Varios factores pueden contribuir a la diseminación de los virus de la influenza aviar, entre ellos, la mundialización y el comercio internacional (legal e ilegal), las prácticas de comercialización (mercados de aves vivas), las prácticas ganaderas y la presencia de virus en las aves silvestres (Oie, 2018). El periodo de incubación transcurre desde la infección hasta la presentación de signos clínicos, esta 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 (Vui et al., 2002).

Las características que debe cumplir un indicador para poder ser monitoreado incluyen:
1) ser suficientemente sensible para detectar señales de cambio, 2) estar distribuido

sobre una amplia área geográfica, 3) que al ser medidos se puedan obtener valores continuos sobre un amplio rango de estrés, 4) que sea factible implementar en el métodos relativamente independientes del tamaño de la muestra, 5) que las mediciones, colectas, experimentaciones y/o cálculos que se le apliquen sean fáciles y económicos y 6) que su estudio permita diferenciar entre ciclos naturales y tendencias. En este sentido las aves han sido utilizadas desde hace mucho tiempo como indicadores por excelencia, precisamente porque cumplen la mayoría de esas exigencias, además de ser fácilmente manejables (Ortega, A. et al., 2010).

Todas las parvadas en las que se obtengan resultados positivos en las pruebas serológicas serán objeto de investigaciones. La situación de cada parvada en la que se obtengan resultados positivos de infección por el virus de la IA se documentara con los resultados de las investigaciones epidemiológicas y de las investigaciones suplementarias en laboratorio (OIE, Código Sanitario para los Animales Terrestres 2017).

6. Signos clínicos de la enfermedad

En su forma leve, los signos de la enfermedad puedan manifestarse con plumaje erizado, reducción de la producción de huevos o efectos leves en el sistema respiratorio. En su forma grave, el virus no sólo afecta al tracto respiratorio, sino que también invade varios órganos y tejidos y puede producir hemorragia interna masiva. Las aves infectadas con la influenza aviar altamente patógena (incluida la cepa H5N1) pueden presentar los signos clínicos siguientes o al menos algunos: Postración y depresión extrema, caída repentina de la producción de huevos, alto porcentaje de huevos con cáscara blanda o sin cáscara (en fáfara), edema y congestión de carúnculas y crestas, edema de la piel debajo de los ojos, tos, estornudos, cuellos torcidos, ataxia, diarrea, hemorragias en el jarrete. 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 la superficies serosas de la cavidad corporal, peritonitis fibrosa o producida por la ruptura de óvulos, inflamación de senos orbitarios, exudación mucosa excesiva en el lumen de la tráquea o traqueítis

hemorrágica grave, traqueítis congestiva, edema con exudado seroso o caseoso en la mucosa de la tráquea. Se pueden producir algunas muertes durante varios días, seguidas de una difusión rápida y una tasa de mortalidad cercana al 100% dentro de las 48 horas (Manual de Procedimientos, 2004). Ocasionalmente se han registrado infecciones en humanos por los virus de la influenza aviar. Tanto los niños como los adultos sanos, al igual que aquellos que padecen enfermedades crónicas, han sido afectados. Algunas infecciones han sido limitadas a conjuntivitis y/o síntomas de influenza típica; otros casos, especialmente los causados (The Center for food security & public health, 2010)

7. Patogenia de la enfermedad

Los virus de la influenza tienen dos características: a) gran capacidad de mutación (de modificar parte de su dotación genética), por lo que varían rápidamente, y por lo que las vacunas deben "actualizarse" con frecuencia b) capacidad de recombinarse (de intercambiar entre sí fragmentos de RNA). Hasta la fecha todos los virus altamente patógenos aislados han sido virus A de influenza, subtipos H5 y H7. Las puertas de entrada del virus son la vía respiratoria y la oral. El virus se multiplica inicialmente en las mucosas conjuntival, respiratoria e intestinal y, tras ello, se disemina en la sangre (viremia) (Corral M et al., 2009). Se produce una multiplicación secundaria en los órganos, principalmente en el tracto respiratorio y digestivo. Las cepas altamente patógenas se replican en todo el organismo. Las aves enfermas eliminan el virus por las secreciones de narinas, boca, ojos, y por las heces. Los virus altamente patógenos pueden seguir activos durante largo tiempo en heces infectadas, tejidos y agua. El virus altamente patógeno se ha encontrado principalmente en gallinas y pavos. Las aves silvestres son reservorios de virus, pudiendo llevarlo normalmente en el tracto respiratorio o intestinal, pero no suelen contraer la infección. (<http://www.cresa.es/granja/gripe-aviar.pdf>). Debido a la gran variedad de signos que se pueden presentar en la IA, es necesario hacer notar que existen otras enfermedades que 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 inhibición de hemaglutinina, por medio de cultivo, aislamiento del virus en embrión de pollo, inmunofluorescencia y ELISA (Calnek et al., 2000)

8. Importancia a nivel mundial

Los virus de la influenza aviar son virus sumamente contagiosos y extremadamente variables dispersos entre la población de aves. Se cree que las aves silvestres en hábitats acuáticos son sus hospedadores reservorios, pero las aves domesticadas y otras aves también pueden infectarse. La mayoría de los virus no causan más que un cuadro clínico leve en las aves, y se denominan virus de influenza aviar poco patógenos (LPAI). Los virus de influenza aviar altamente patógenos (HPAI) pueden desarrollarse a partir de algunos virus de influenza aviar poco patógenos (LPAI), por lo general mientras se encuentran circulando entre las bandadas de aves. Los virus de la HPAI pueden matar entre el 90 al 100 % de la bandada, y causar epidemias que podrían llegar a propagarse rápidamente, asolar la industria avícola y producir graves restricciones al comercio internacional. (Highly Pathogenic Avian Influenza, 2015)

En las aves, la presencia de virus de LPAI capaces de convertirse en virus de HPAI también puede afectar el comercio internacional. Los virus de influenza aviar pueden llegar a afectar a los mamíferos, incluidos los seres humanos, por lo general después de un contacto cercano con aves infectadas. Aunque las infecciones en las personas suelen limitarse a conjuntivitis y leve infección respiratoria, algunos virus pueden causar un proceso patológico grave. En particular, los virus HPAI H5N1 de cepa asiática han provocado infecciones raras, pero potencialmente mortales que alcanzan ya la cifra de 850 casos confirmados por el laboratorio desde 1997 (cdfa.ca.gov/ahfss/Animal_Health/Avian_Influenza, 2018).

Cualquier programa de bioseguridad ha de contemplar los siguientes aspectos: Localización de la granja, características de la construcción de los galpones, control de

animales extraños a la explotación (animales salvajes, insectos, ratas, ratones, etc.), limpieza y desinfección de la granja en general (incluye galpones, bebederos, comederos y además utensilios que se utilicen en la granja.), utilización de lotes de la misma edad o de dos edades, control de las visitas y personal ajeno a la explotación, evitar el estrés en aves encasetadas, evitar contaminación del pienso, controlar los programas de vacunación y medicación de la parvada, control de las deyecciones, cadáveres, manejo de compost, etc., tratamiento y floculación del agua, localización de la granja (lo más alejada de otras granjas avícolas) distancia mínima de 500 metros o de distinta especie (distancia mínima 5 km.). (Ricaurte G., Sndra L., febrero 2005)

Los patos migratorios es la especie animal donde los virus de la gripe aviar se encuentran con mayor frecuencia, y son estas aves las más resistentes a la infección. En cambio, las aves de corral como pollos, gallinas y pavos, son particularmente las más susceptibles y en ellas se presentan altas mortalidades cuando un virus de alta patogenicidad las infecta. La causa más frecuente de estas epidemias es, por tanto, un contacto directo entre las aves migratorias y las de corral. (Rivera, O., 2014.)

Zonas donde actualmente hay brotes de gripe aviar en las aves de corral. En lugares donde se practica la cría doméstica, la costumbre de sacrificar, desplumar y eviscerar a los animales en el propio domicilio, combinada con la venta de aves vivas, favorece una exposición extensa y recurrente a ciertas partes de las aves que pueden estar contaminadas. Estas prácticas entrañan un importante riesgo de infección. Por lo que se sabe hasta ahora, en muchos casos de infección humana confirmada el contagio se produjo durante el sacrificio y la subsiguiente manipulación de aves enfermas o muertas antes de cocinarlas. Para sacrificar, desplumar y eviscerar a las aves en casa sin peligro alguno es menester que la persona trabaje con el equipo de protección completo y tenga perfecto conocimiento de las medidas de prevención. Por tal motivo conviene poner fin a esas prácticas con animales muertos o a todas luces enfermos, como ocurre en medios rurales tradicionales de Asia y otras regiones (INFOSAN., 2005.)

El virus del linaje asiático HPAI H5N1 siguió siendo notificado en países de Asia y África en aves de corral y aves silvestres. El virus se volvió enzoótico en Asia y África y continúa causando brotes en aves de corral e infecciones humanas esporádicas. A partir de

febrero de 2018, 860 infecciones humanas han sido reportadas a la OMS en 16 países y territorios. Todos casos de infección por H5N1 en humanos se han asociado con el contacto cercano con personas infectadas o aves muertas, o ambientes contaminados con H5N1. Los países afectados deberían centrarse en fortalecer las medidas de bioseguridad para prevenir la introducción de enfermedades en las bandadas y evitar contacto entre aves silvestres y aves de corral. (OIE Situation Report for Avian Influenza, 2018).

9. Materiales y métodos

El estudio se realizó dentro de los límites que comprenden la Región Lagunera de Coahuila, localizado en la parte oeste del sur del estado de Coahuila, tomando en cuenta los municipios de Torreón (25°32'40"N 103°26'30"O), Francisco I. Madero (25°46'31"N 103°16'23"O), Viesca (25°20'33"N 102°48'24"O), San Pedro (25°45'32"N 102°59'04"O) y Matamoros (25°31'59"N 103°15'00"O), que se encuentran consideradas la región lagunera es el nombre dado a una zona que está conformada por 5 municipios del estado de Coahuila dentro de esta área. Las muestras fueron tomadas en aves de granjas tecnificadas que están dentro de las demarcaciones de los municipios antes mencionados con el fin determinar si las aves presentan el virus de la Influenza Aviar.

Población a muestrear: 70 granjas avícolas de pollo y postura comercial el número de muestras por nave avícola que se tomaran son 30 hisopos cloacales y 30 suero sanguíneo

Se realizó un muestreo donde se obtendrá la toma de suero e hisopo cloacal de una parte representativa de la población de la granja avícola con: a) Un ciclo de muestreo en granjas de pollo de Mes y medio. b) Un ciclo de muestreo de 30 días en granjas de postura comercial.

Usando jeringas de 5ml. o 10ml. Se procederá a tomar la muestra de suero sanguíneo tomando de 3 a 5 ml. de sangre, esto para que podamos obtener 50 microlitros de suero. Las muestras obtenidas con una aguja son más limpias que las obtenidas con un

escalpelo. No dañar las muestras al forzarlas por la aguja hacia el tubo de coagulación, hacer que la sangre corra por las paredes del tubo de coagulación y posicione los tubos horizontal-mente hasta que el coágulo esté formado. No agitar las muestras y Manejarlas con cuidado. Las muestras obtenidas de sangre se tendrán que centrifugar a 2,500-3,000 RPM durante 15-20 minutos para obtener el suero de manera más eficiente, una vez terminado el proceso de centrifugado se tomaran los tubos con el suero sanguíneo y se pasaran a unos viales así podremos numerar las 30 muestras de suero y registrarlas en el SINEXE poniendo el registro obtenido en una bola de sellado hermético

Las muestras de hisopo se pueden aplicar en la cloaca o de forma traqueal, usamos el método de hisopado cloacal por el hecho de que algunas aves jóvenes se pueden asfixiar o lastimar cuando se aplica el muestreo y de forma cloacal es más rápido y es un método menos rudo en el ave, las muestras se colocan en tubos falcón llenado con 5ml. De PBS como conservador, se colocan 5 hisopos cloacales por tubo falcón.

Se mandarón las muestras tomadas al laboratorio en un lapso no mayor a 24 hrs. Con hieleras marcadas con su número de registro, selladas y enviadas a los distintos laboratorios que colaboran con CPA uno para las muestras de suero y otro para las muestras de hisopos cloacales.

Se realizará la prueba de PCR a tiempo real para detectar positivismos a influenza aviar

Los resultados del laboratorio se tendrán en 5 días.

10. Norma para la toma de muestras

La Influenza Aviar es una enfermedad de reporte obligatoria, y se encuentra regida 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 ensaye o a través de papel filtro y para la realización de aislamiento viral se toman órganos y/o hisopos con muestras traqueales o cloacales.

11. Acuerdo para la toma de muestras

ARTICULO 1. El presente Acuerdo tiene por objeto establecer la campaña y medidas zoonosanitarias para el diagnóstico, prevención, control y erradicación de la Influenza Aviar Notificable en las zonas del territorio nacional en las que se encuentre presente esa enfermedad.

ARTICULO 2. Para los efectos del presente Acuerdo, además de las definiciones establecidas en la Ley Federal de Sanidad Animal

ARTICULO 3. Estarán obligadas a cumplir con lo dispuesto en el presente Acuerdo, las personas físicas y morales que produzcan, procesen, manejen, movilen o comercialicen lo siguiente:

- I. Aves de corral, y
- II. Los productos y subproductos derivados de las aves.

ARTICULO 4. El presente Acuerdo es de observancia obligatoria en todo el territorio nacional. La Secretaría aplicará y vigilará el cumplimiento a lo dispuesto en este Acuerdo a través del SENASICA y de sus Delegaciones Estatales.

ARTICULO 5. El SENASICA, reconocerá y determinará respecto de una Zona, los siguientes estatus zoonosanitarios, dependiendo del nivel de incidencia del virus de Influenza Aviar Notificable:

- I. De escasa prevalencia; II. En erradicación, o III. Libre.

ARTICULO 6. Para fines de reconocimiento de un determinado estatus zoonosanitario, se aplicarán las herramientas de zonificación y compartimentación. La bioseguridad y la vigilancia epidemiológica, tanto activa como pasiva y el control de la movilización, serán componentes esenciales para la zonificación y la compartimentación.

12. Procedimiento para la toma de muestras de aves

12. 1 Consideraciones generales para el sangrado de las aves

Para la realización de este trabajo se optó por la toma de sangre completa, y realizar la prueba de inhibición de la hemoaglutinación, ya que es una forma más rápida y segura que por medio de tubos de ensaye, la cual se describe más adelante.

En muchas ocasiones, se requiere muestras para llevar a cabo pruebas serológicas o hematológicas, por lo que, es necesario obtener muestras de sangre. Para seleccionar la técnica más adecuada en un caso particular, se debe tener en cuenta: • Edad de las aves. • Volumen de sangre requerido. • Destino posterior del ave, dentro del cual puede contraerse reingreso a la parvada.

12. 2 Técnicas para la punción de la vena braquial

Seleccione aves representativas normales (30 muestras de suero), a menos que esté trabajando en un diagnóstico. Tome de 2.0 a 3.0 ml de sangre de cada ave. Las muestras que se toman con una aguja son más limpias que con un bisturí. No dañe las muestras forzando El Paso de la muestra de sangre de la aguja al tubo sin anticoagulante. Asegúrese que la sangre corra por un lado del tubo y coloque los tubos casi planos hasta que se forme el coágulo. Deje la sangre en el tubo de 10 a 12 horas a una temperatura aproximada de 80°F (27°C). La sangre no debe manipularse o agitarse bruscamente mientras se forma el coágulo o va a ocurrir la hemólisis. Remueva el coágulo cuidadosamente, o saque el suero. No envíe las muestras sin remover antes el coágulo. Mantenga las muestras de suero frías y envíelas inmediatamente al laboratorio en un paquete con hielo o en un paquete frío.

No envíe al laboratorio muestras de suero que: • Contengan menos de 0.25 ml de suero • Con hemólisis excesiva (rojas) • Con lipemia excesiva (grasa) • Con coágulos • Gelificado viscoso o con partículas parecidas al queso

12. 3 Selección de las aves a muestrear

Se efectuará el muestreo serológico de acuerdo con el acuerdo establecido por la Dirección General de Salud Animal, Dirección de Campañas Zoonosanitarias.

13. Extracción de muestras

Una vez que se ha obtenido la sangre en la jeringa, se debe colocar cuidadosamente dentro de un tubo para permitir que se coagule (tubo de coagulación). Un coágulo ocurre cuando todas las células de la sangre se unen por el proceso de coagulación y se separa de la porción líquida de la sangre (suero). La aguja debe ser removida de la jeringa antes de que la sangre sea vertida en el tubo de coagulación. El forzar la sangre a través de la aguja puede dañar las células de la sangre y resultar en una muestra de mala calidad. Para limitar el daño de los glóbulos rojos de la sangre, se debe inyectar la muestra de sangre lentamente en el tubo para que corra hacia abajo por la pared del tubo. La sangre se debe poner en el tubo de coagulación antes de que empiece la coagulación. No toque los tubos mientras que el proceso de coagulación esté ocurriendo. Los tubos se deben mantener en una posición casi plana (horizontal) para maximizar la superficie del área del coágulo mientras que éste se forma. La cantidad de suero que se obtiene de la sangre coagulada depende de la superficie del área del coágulo. Un tubo que se sostiene en posición vertical tiene una superficie muy pequeña y produce solamente una pequeña cantidad de suero. Un sostenedor de tubos es de gran ayuda para mantener los tubos en esta posición plana. Si no se tienen disponibles los sostenedores de tubos, entonces se puede usar un pedazo de madera al que se le taladran agujeros del tamaño apropiado. El tiempo que se requiere para la coagulación depende de la temperatura del aire en donde se mantienen los tubos. La temperatura ideal para la formación de la coagulación es de 80 a 100 °F. En esta temperatura la separación del suero será completada en 12 a 18 horas. En temperaturas más frescas, el proceso de coagulación es más lento y la extracción del suero es reducida. Si las muestras de sangre son expuestas a altas temperaturas por largos períodos de tiempo pueden ser dañadas y están sujetas a una mayor contaminación bacteria. Esto puede ocurrir dejando las muestras de sangre en un

auto cerrado durante los meses de calor. El suero contaminado con bacteria o con moho tiene apariencia nebulosa, pegajosa y con partículas sólidas caseosas. Estos microorganismos se alimentan de los anticuerpos en el suero y pueden reducir significante-mente la cantidad de anticuerpos medidos en el laboratorio. Las muestras de sangre no deben ser expuestas a la luz directa del sol. La sangre coagulada no se debe congelar. Las muestras de sangre no se deben de agitar ni de rodar. Si las muestras de sangre son manipuladas sin cuidado, el suero contendrá pigmentos de glóbulos rojos rotos. Este proceso se llama hemólisis y hace que el suero se vea de un color rojo o rosado. La hemólisis interfiere con las pruebas de laboratorio que miden los anticuerpos. Después de que la sangre se ha coagulado, se puede vaciar el suero del tubo de coagulación a otro tubo, o se puede sacar el coágulo cuidadosamente del tubo con un palillo, dejando solo el suero en el tubo. El coágulo se debe manipular cuidadosamente durante el proceso de la separación del suero. Una muestra de suero de buena calidad debe ser clara con un ligero color amarillo. Las muestras nebulosas, pegajosas, o con hemólisis no se deben mandar al laboratorio

14. Forma de envío

- Una vez que se ha separado el suero del coágulo, se debe de mantener fresco y debe mandarse inmediatamente al laboratorio. El suero no debe ser congelado si las pruebas de laboratorio van a hacerse en unos días. Los tubos que contienen muestras de suero de aves individuales deben estar bien tapados, y organizados por lote, en bolsas de plástico con cierre hermético. Para enviar las muestras por correo se deben usar contenedores de espuma de polietileno que contengan bolsas de enfriamiento. Es mejor no enviar las muestras por correo los jueves o los viernes para evitar que la entrega al laboratorio sea durante el fin de semana. El suero que va a ser almacenado por largos períodos de tiempo, debe ser congelado. La calidad de las muestras de suero recibidas por el laboratorio son el primer paso importante para obtener resultados serológicos precisos, que ayudan al avicultor a tomar decisiones con respecto a las prácticas de manejo y a los programas de vacunación. Muchas veces la mala calidad de las muestras

afecta en forma adversa la precisión de los resultados del laboratorio, lo cual es una pérdida de tiempo, dinero y esfuerzo ya que causan interpretaciones incorrectas. Para su envío al: LABORATORIO DE LA C.P.A EN LA CIUDAD DE MÉXICO. Para el análisis de las pruebas se debe realizar una prueba de inhibición de la hemoaglutinación en los laboratorios de la C.P.A, CENASA o los laboratorios aprobados por SAGARPA.

15. Descripción de la prueba de laboratorio

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. La técnica de inhibición de la hemaglutinación permite detectar la presencia de anticuerpos contra el virus de IA en el suero de aves expuestas y se deben realizar con 4 unidades hemaglutinantes (UHA) del antígeno viral, utilizando exclusivamente las técnicas y los reactivos de diagnósticos autorizados por la SAGARPA.

16. Equipo, instrumentos, reactivos requeridos para el diagnóstico

16. 1 Equipo e instrumentos

Agitador para microplacas, Lector para microplacas, potenciómetro, contenedores para reactivos, jeringas de 5 y 10 ml, Microplacas con fondo de "V", puntas para micropipeta, Micropipeta multicanal con volumen ajustable de 25 a 50 microlitros, centrifuga clínica, Tubos de centrifuga.

16. 2 Reactivos

1. Preparación de la solución salina fosfatada (PBS) pH 7.2 a 7.4 Solución madre: KH_2PO_4 anhidro 0.15 M 3.25 g, NaH_2PO_4 anhidro 0.15 M 10.8 g, NaCl 170 g, Agua destilada (c.b.p) 1000ml.

Solución de trabajo: preparar una disolución 1:20 de la siguiente manera: 50 ml de solución madre más 950 ml de agua, destilada y ajustar a un pH de 7.2 a 7.4 con NaOH al 2% en agua destilada.

2. Diluyente para el antígeno: se emplee la solución de trabajo adicionada con 0.02% de albúmina sérica bovina.

3. Anticoagulante de Alseaver para la muestra de sangre de pollo de donde se obtendrán los eritrocitos utilizados en la prueba: dextrosa

20.5 g, citrato de sodio 8.8 g, Ácido cítrico 0.55 g, Cloruro de sodio 4.2g.

Agua destilada 1000 ml. Esterilizar en autoclave 100°C, 15 minutos y posteriormente almacenar en refrigeración a 4°C a hasta su uso.

4. Eritrocitos de pollo lavados a una concentración final de 1% en PBS, los cuales se deben procesar de la siguiente manera.

a) Se colecta una muestra de pollo sano con el anticoagulante de Alseaver (v/v).

b) Se lava los eritrocitos en un tubo para centrifuga colocando un volumen de sangre con Alseaver llenando el tubo con PBS.

c) Invertir el tubo varias veces para suspender perfectamente los eritrocitos.

d) Centrifugar la sangre a 500 g durante 5 minutos.

e) Eliminar el sobre nadante y la capa de leucocitos (capa blanca).

f) Llenar nuevamente el tubo con PBS.

g) Repetir el ciclo de lavado y centrifugar 2 veces más, posteriormente, diluir los eritrocitos a una concentración final de 1% (v/v) en PBS.

5. El suero testigo positivo contra el subtipo H5N2 del virus de IA será proporcionado por la CPA.

6. Antígeno viral (H5N2) inactivado, será proporcionado por la CPA.

7. dentro de las condiciones ambientales del laboratorio debe existir una temperatura de 18 a 20 grados centígrados para su operación.

17. Titulación del antígeno

- Colocar 25 microlitros de diluyente para el virus en cada uno de los 12 pozos en 2 filas de una microplaca de poliestireno de fondo en "V".
- Agregar 25 microlitros de antígeno en el primer pozo de cada fila.
- Utilizando micropipeta de 25 microlitros, hacer diluciones logarítmicas base 2 seriadas de 1:2 a 1:1024 del antígeno, dejando los dos últimos pozos de cada fila si antígeno para que sirva como control de eritrocitos.
- Agregar otros 25 microlitros de PBS en cada pozo.
- Agregar 25 microlitros de la suspensión de eritrocitos de pollo al 1% en PBS a cada pozo y agitar la microplaca para mezclar los reactivos.
- Cubrir la microplaca e incubar a temperatura ambiente durante 30 minutos. Realizar la lectura hasta que se forme un botón bien delimitado en el fondo de los pozos para control de eritrocitos.
- Interpretación de la titulación del antígeno: El punto final de la titulación de antígeno es la dilución más alta del antígeno en la que se observe el 100% de hemaglutinación. Se considera que en esta dilución existe una unidad hemaglutinante (UHA). La dilución conteniendo las HUA deseadas del antígeno, se determina dividiendo el punto final de la hemaglutinación entre 4 para obtener 4 UHA en 25 microlitros de suspensión del antígeno.

18. Procedimiento de la prueba de inhibición de la hemaglutinación

a) Preparación y acondicionamiento de la muestra:

- Identificar con exactitud las muestras de suero a analizar.
- En el caso de las muestras de sangre embebida en papel filtro se debe colocar una tira de papel filtro Whatman 41 o su equivalente y adicionar 40 microlitros de PBS y7 mantener en agitación durante una hora.

b) Procedimiento de la prueba. En esta prueba las muestras serán analizadas en diluciones de 1:2, 1:4, 1:8 y 1:16, para identificar las muestras positivas.

- Colocar en una micro placa en forma de "V", 25 microlitros de PBS en cada uno de los 96 pozos.
- Con una micropipeta, transferir 25 microlitros de cada una de las muestras de suero o de las muestras de papel filtro previamente resuspendido, a la primera línea de pozos de la microplaca, en el orden en las que las muestras han sido identificadas.
- Mezclar las muestras de suero y PBS y hacer 4 diluciones dobles seriadas de 1:2 hasta 1:16 con un volumen de 25 microlitros, descartando los últimos 25 microlitros de la dilución 1:16.
- En cada prueba se coloca control de eritrocitos con 25 microlitros de eritrocitos al 1% y 50 microlitros de PBS.
- En cada prueba se debe colocar un suero testigo positivo a la presencia de anticuerpos contra el virus de IA con un título previamente determinado, así como un suero testigo negativo que no posea anticuerpos contra ningún virus IA, ambos diluidos de manera similar a los sueros a analizar en la prueba.
- Una vez ejecutadas las diluciones, agregar 25 microlitros del antígeno de IA previamente ajustado a 4 UHA en 25 microlitros.

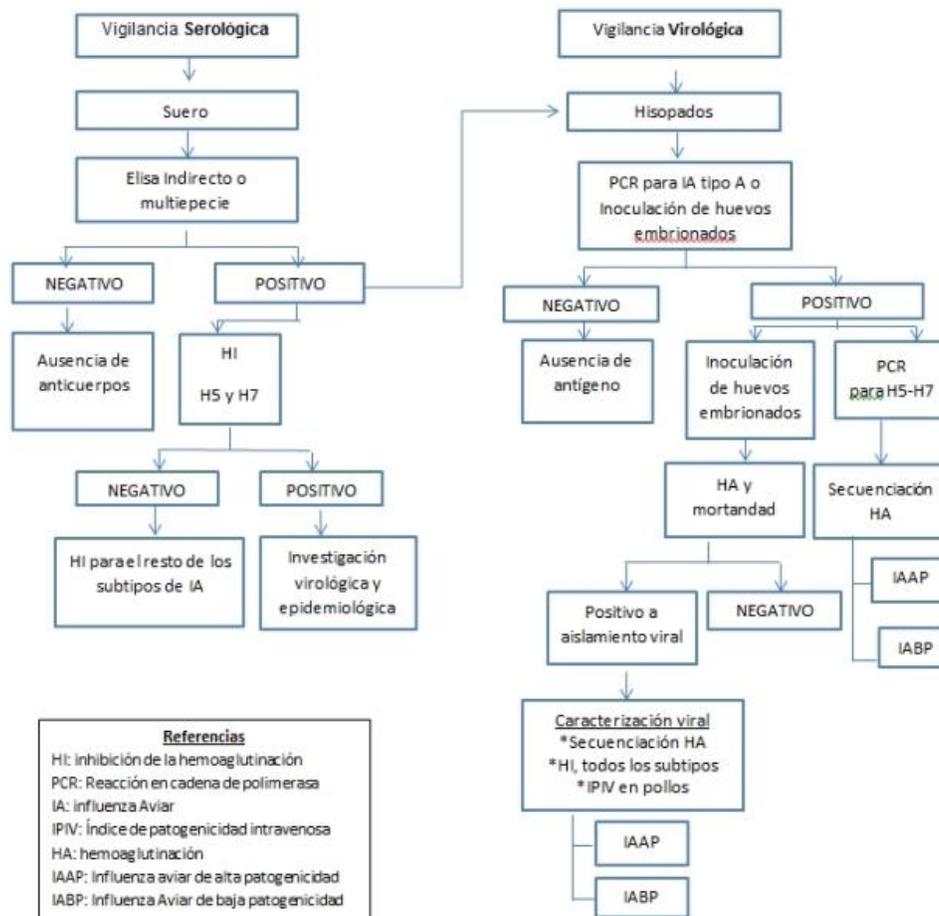
- Cubrir la placa, agitarla gentilmente e incubar a temperatura ambiente durante 30 minutos.
- Agregar 25 microlitros de la suspensión de eritrocitos al 1% a cada uno de los pozos.
- Cubrir la placa, agitarla gentilmente e incubar a temperatura ambiente hasta que los eritrocitos testigos se sedimenten para formar un botón bien delimitado (30 a 45 minutos).
- Leer y registrar los resultados como hemaglutinación o inhibición de la hemaglutinación en cada uno de los pozos. Los pozos que se observen con aspecto similar al control de eritrocitos (que contiene 25 microlitros de eritrocitos y 50 microlitros de PBS), deben ser considerados como una reacción de inhibición de la hemaglutinación.
- Para la validación de la prueba, los resultados del suero testigo negativo no deben tener un título mayor a 1:4 ($>2^2$ o \log_2) de IH, mientras que el suero testigo positivo debe tener un título similar previamente establecido o tener un título con una diferencia no mayor a una dilución (lóg. base 2) de título previamente establecido.

19. Interpretación de resultados

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 (lóg. base 2).

Se considera sospechosos los sueros que produzcan inhibición de la hemaglutinación franca en la dilución 1:10 (2^3 o lóg. 23). Se considera negativos los sueros que no produzcan inhibición de la hemaglutinación o que la produzcan en diluciones iguales o menores a 1:4 ($>2^2$ o lóg. 2). La sensibilidad de la prueba de IH es de 80%.

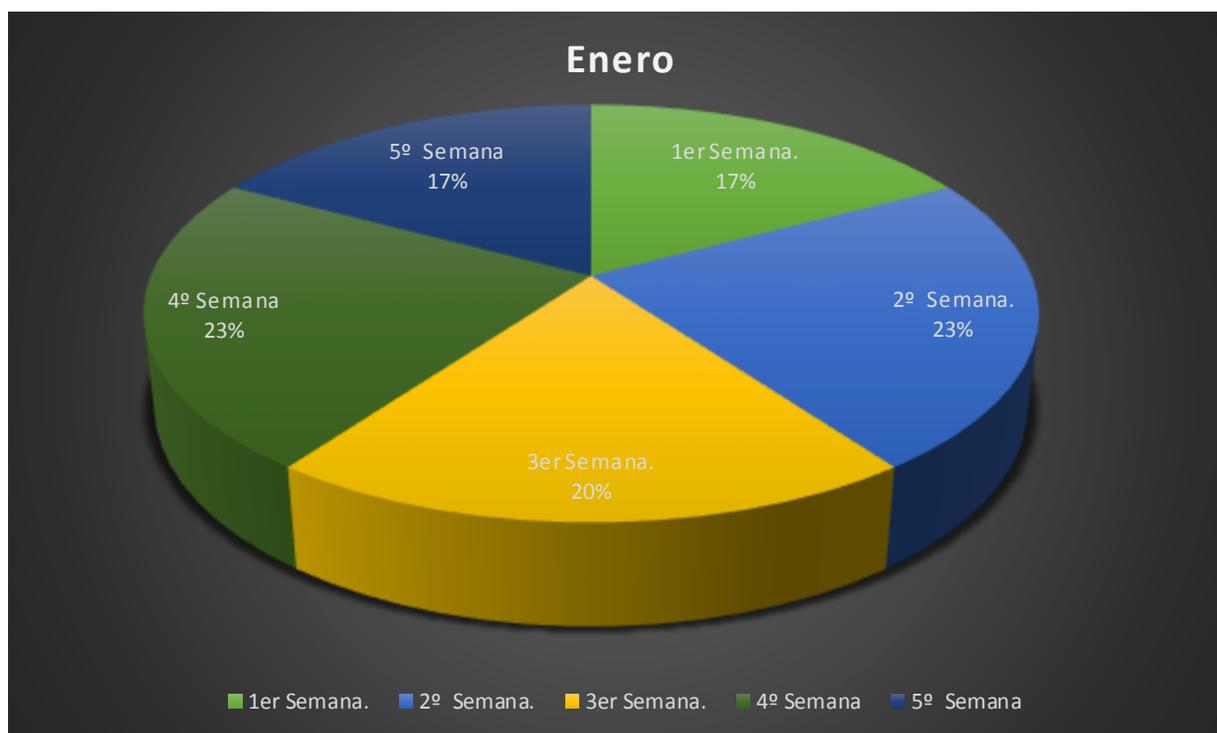
20. Diagrama de flujo para el diagnóstico serológico y virológico de la influenza aviar



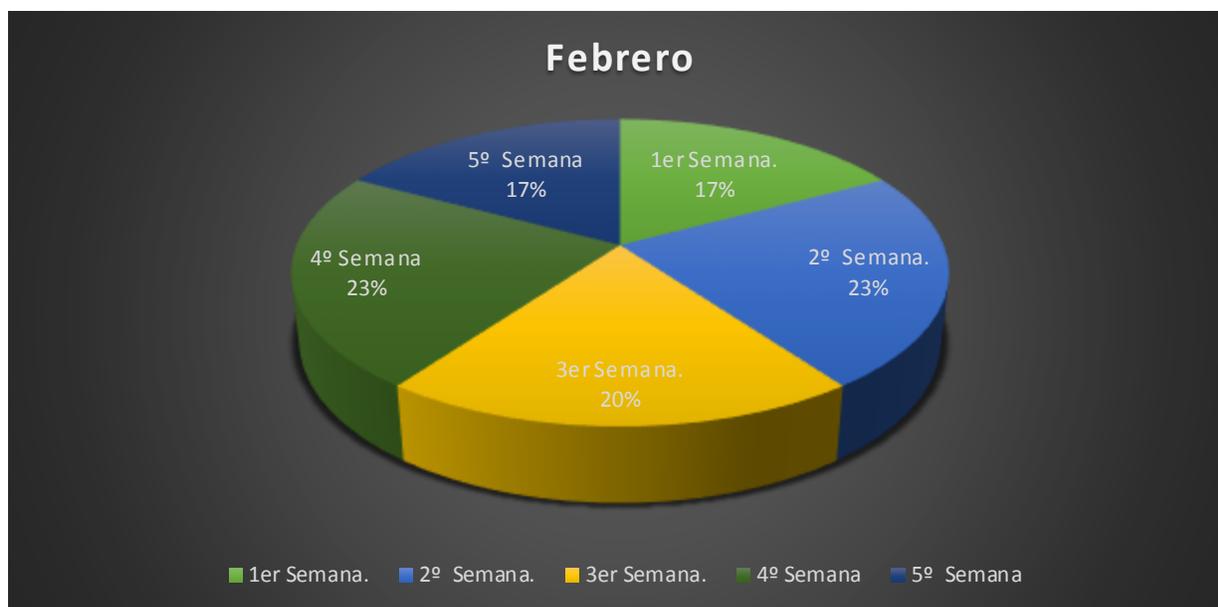
21. Resultados y discusión

Se realizó un monitoreo en aves de granjas de reproductoras pesadas, postura comercial y pollo de engorda en la Región Lagunera de Coahuila para el diagnóstico serológico de la enfermedad de Influenza Aviar por medio de la técnica de la hemaglutinación.

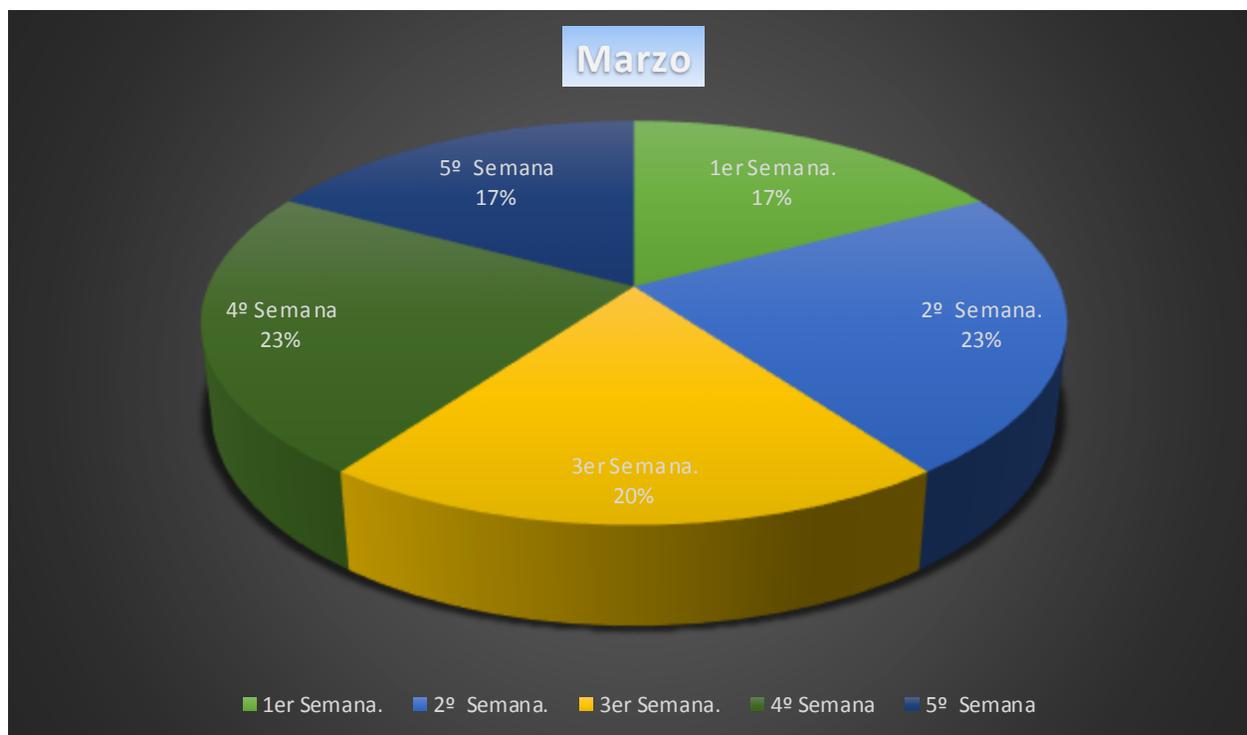
Durante el proceso del trabajo de campo se realizaron muestreos en las granjas que corresponden a los municipios de Francisco I. Madero, Viesca, Torreón, San Pedro y Matamoros. Se recolectaron en el mes de abril del 2018, un total de 70 granjas con 6,300 muestras de sueros e 6,300 muestras de hisopos traqueales y cloacales. En cada granja a muestrear se toma un total de 30 hisopos cloacales y 30 muestras de suero por granja, durante el mes de enero se llevó un total de 70 Granjas totales a muestrear de la Región Lagunera de Coahuila que se dividió en 5 semanas dando un resultado de 2,100 hisopos cloacales y 2,100 de sueros en el mes de enero (figura 1).



Se tomó un total de 30 hisopos cloacales y 30 muestras de suero por granja, durante el mes de febrero se llevó un total de 70 Granjas totales a muestrear de la Región Lagunera de Coahuila que se dividió en 5 semanas, pero en diferente orden que en el mes de enero dando un resultado de 2,100 hisopos cloacales y 2,100 de sueros en el mes de febrero (figura 2).



Se tomó un total de 30 hisopos cloacales y 30 muestras de suero por granja, durante el mes de marzo se llevó un total de 70 Granjas totales a muestrear de la Región Lagunera de Coahuila que se dividió en 5 semanas, pero en diferente orden que en el mes de febrero dando un resultado de 2,100 hisopos cloacales y 2,100 de sueros en el mes de febrero (figura 3).



Todas las muestras fueron analizadas en laboratorio a través de la prueba de inhibición de la hemaglutinación.

Todas las muestras fueron consideradas como negativas al virus de la Influenza Aviar. Con el resultado obtenido de este trabajo, se confirma que las aves que se encuentran en las granjas tecnificadas de la Región Lagunera de Coahuila; Francisco I. Madero, Viesca, Torreón, San Pedro y Matamoros. Se encuentran libres del virus de la Influenza Aviar H5 y H7

22. Conclusiones

1.- De la investigación realizada durante el periodo de abril en la Región Lagunera de Coahuila en los municipios de Francisco I. Madero, Viesca, Torreón, San Pedro y Matamoros se concluyó en base a los resultados obtenidos que no hay positivos al virus de la influenza aviar

23. Literatura citada

- Altamirano González-Ortega, Marco Antonio; Guzmán Hernández, Jaqueline; Martín Gómez, Martín Francisco; Domínguez Velázquez, Luis Enrique Un método para la selección de aves bioindicadoras con base en sus posibilidades de monitoreo Huitzil. Revista Mexicana de Ornitología, vol. 4, núm. 2, 2003, pp. 10-16.
- C. Perera. Rev Salud Anim. v.33 n.1, ene.-abr. 2011.
- OIE - Código Sanitario para los Animales Terrestres, 2017
- Calnek B. W., H. J. Barnes, C. W. Beard, W.M. Reid , H. W. Yoder Jr. 1995. Diseases of poultry. Novena Edición. Iowa state university press. Ames, Iowa, USA. pp 532–551.
- Enfermedades de las aves. W. Calnek. 2º Edición. Manual Moderno. 2000.
- F.X. Bosch, M. Orlich, H.D. Klenk, R. Rott. Proteolytic cleavage of influenza virus haemagglutinins: primary structure of the connecting peptide between HA1 and HA2 determines proteolytic cleavability and pathogenicity of avian influenza viruses. Virology, 113. 1981, pp. 725-735.
- Grandes órdenes de magnitud del impacto socio-económico que podría tener la influenza aviar en América Latina y el Caribe, 2nd versión: ORGANIZACIÓN DE

LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN OFICINA REGIONAL PARA AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE
FAO/RLC noviembre, 2005

- José A. Castelló LI. et.al. Jornadas Profesionales de AVICULTURA PRODUCCIÓN de POLLOS. 3 y 4 mayo 2010.
- L. Ricaurte, Bioseguridad en granjas avícolas Vol. VI N°2, Revista Electrónica de Veterinaria REDVET ISSN Febrero 2005, pp. 1695-7504
- Manual de Procedimientos, Influenza Aviar altamente patógena, Dirección Nacional de Sanidad Animal, Buenos Aires, SENASA 2004
- M. Corral, M. Reséndiz, G. López, V. Ruiz, J. Leyva, J. Hernández. Acta Bioquím Clín Latinoam 2009; 43 (1): 49-52.
- Memorias de la Octava Reunión Internación de Aviespecialistas de México (AVEM) San Juan del Rio, Qro. Marzo 2015.
- Memorias jornadas profesionales de aviculture Production de carne de pollo, 2 edición., 2010.
- Maricela Montalvo-Corral, Mónica Reséndiz, Gerardo Santos-López, Verónica Vallejo-Ruiz, Julio Reyes-Leyva, Jesús Hernández. Estandarización de un método de detección molecular del virus influenza (H5N1) de alta patogenicidad. Acta Bioquím Clín Latinoam 2009; 43 (1): 49-52.
- Nota de información INFOSAN N° 7/2005 (Rev.1, 5 de diciembre)- Gripe aviar
- OIE Situation Report for Avian Influenza 28 February 2018
- P.K. Chan. Outbreak of avian influenza A (H5N1) virus infection in Hong Kong in 1997. Clin Infect Dis, 34 (2002), pp. S58-64
<http://dx.doi.org/10.1086/338820> Medline
- <https://www.gob.mx/senasica/documentos/situacion-actual-de-la-influenza-aviar-en-mexico?state=published> Consultado 20/03/2018

- https://www.cdfa.ca.gov/ahfss/Animal_Health/Avian_Influenza.html Consultado 18/05/2018
- Ricaurte G., Sandra L., Revista Electrónica Veterinaria REDVET ISSN 1695-7504, Vol. VI, Núm. 2, febrero 2005
- Rivera, O. REDVET Rev. Electrón. vet. Volumen 15 N° 08, ISSN 1695-7504, 2014.