

UNIVERSIDAD COOPERATIVA DE COLOMBIA
CENTRO DE INVESTIGACIONES

RESUMEN ANALÍTICO

- A. TIPO DE DOCUMENTO Proyecto de investigación
- B. TIPO DE IMPRESIÓN Procesador de texto
- C. NIVEL DE CIRCULACIÓN Biblioteca de la Universidad
Cooperativa de Colombia
- 2. TÍTULO:** ESTUDIO SEROLÓGICO PARA INFLUENZA AVIAR, EN
PLANTELES DE REPRODUCTORAS DE LA PROVINCIA DE SOTO
SANTANDER.
- 3. AUTORES** OMAR ALBERTO LEÓN DÁVILA
- 4. PUBLICACIÓN:** Bucaramanga, Universidad Cooperativa
de Colombia. 2003
131 Hojas
- 5. UNIDAD PATROCINANTE.** Recursos propios con colaboración del
Instituto Colombiano Agropecuario ICA.
Seccional Santander, para la realización
de la prueba.
- 6. TEMAS RELACIONADOS:** Enfermedades de las aves, enfermedades
virales de las aves, Complejo respiratorio aviar, Enfermedades exóticas de las
aves para Colombia, Peste aviar y Orthomyxovirus.

6.1 PALABRAS CLAVES: Aislamiento, Bioseguridad, Elisa, Enfermedad exótica, Estudio serológico, Hemaglutinina, Influenza aviar, Inhibición de la hemoaglutinación, Inmunodifusión en Agar gel, Inoculación, Neuraminidasa, Orthomyxovirus, Peste aviar, Prevención, Pruebas serológicas, Reproductoras, Transmisión y Virus.

7. DESCRIPCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN: Este proyecto fue realizado por un estudiante de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Cooperativa de Colombia, Seccional Bucaramanga, dirigido a los planteles de aves reproductoras del genero Gallus Domesticus, perteneciente a la Provincia de Soto Santander, buscando la posible presencia del virus de influenza aviar mediante un estudio serológico utilizando la prueba de inmunodifusión en Agar gel (IDAC)

8. FUENTES: Trabajo de campo para coleccionar las muestras de sangre, trabajo en el laboratorio del ICA Bucaramanga, para la separación de los sueros a ser enviados al laboratorio del ICA-CEISA en Bogotá, procesamiento de los sueros en el laboratorio ICA-CEISA por medio de la prueba IDAG.

9. CONTENIDOS

9.1 JUSTIFICACIÓN: La sola presunción de la ausencia de influenza aviar con base en los signos clínicos es de alto riesgo y se requiere de estrategias complementarias como son los estudios serológicos en poblaciones susceptibles y en animales que presenten una problemática compatible con la enfermedad. Para el caso de las enfermedades exóticas se requiere que estos estudios sean desarrollados cooperativamente con el ICA. para identificar oportunamente la sospecha y así tomar las medidas correctivas que eviten su diseminación.

Siendo la influenza aviar una enfermedad viral que varia desde una infección leve o asintomática hasta una enfermedad aguda y fatal; cabe la posibilidad de que en las explotaciones avícolas de la región se encuentre el virus causando una infección leve pero que al mantenerse en las explotaciones susceptibles interactúe con factores de manejo y medio ambiente pudiendo recombinarse e incrementar su virulencia y ocasionar un brote; lo cual seria de consecuencias desastrosas si llegara a suceder, afectando las producciones e impidiendo el libre comercio, disminuyendo así el potencial exportador y por supuesto que para Santander sería un duro golpe, si tenemos en cuenta que el 22% de la avicultura nacional esta en este departamento.

Por lo anterior en una zona tan importante avícolamente como lo es la Provincia de Soto, donde se han presentado formas clínicas de enfermedad respiratoria sin diagnosticar o identificar surge la necesidad de averiguar si estas manifestaciones respiratorias pudieran ser causadas por la presencia del virus de Influenza aviar, por lo cual se justifica realizar un estudio serológico en los planteles de reproductoras con el fin de identificar oportunamente reactores que puedan indicar la presencia de la enfermedad.

El monitoreo frecuente de las explotaciones y el reporte oportuno de la enfermedad, constituye la mejor manera de prevenir la Influenza aviar (IA).

La vigilancia epidemiológica es fundamental para la detección temprana de la actividad viral y evitar la diseminación del virus, y, en caso de detectarse la enfermedad, nos permitirá conocer la población en riesgo, el posible origen, establecer la distribución de la enfermedad, conocer las condiciones de la población en riesgo, diseñar las medidas de control adecuadas, etc.

Además hay que tener en cuenta que en países como el Ecuador hace poco hubo alarma de la presencia del virus de IA y Chile donde este año se ha presentado

un brote de la enfermedad, mantienen un intercambio comercial avícola con nuestro país, lo cual pone en riesgo la avicultura colombiana.

9.2 ANTECEDENTES Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA: Las enfermedades exóticas constituyen un grupo de patologías sobre las cuales es de fundamental importancia realizar acciones de vigilancia, para evitar su introducción al país. En países en donde a través de sistemas de monitoreo han demostrado la presencia de alguna de estas enfermedades como la I.A., se han logrado establecer oportunamente los sistemas de control y prevención adecuados para disminuir el impacto económico de estas enfermedades.

La influenza aviar es una enfermedad de gran importancia económica y sanitaria para la industria avícola mundial, debido a las restricciones que ocasiona para el comercio internacional y a las pérdidas representadas por la elevada mortalidad y baja en la producción que se presenta en las aves afectadas.

Se han presentado brotes recientes de I.A. en países Centroamericanos, y en Suramérica, Chile, País con el que Colombia sostiene un importante intercambio en el comercio avícola, presento en los primeros meses del año un brote de la enfermedad, lo cual hace, que junto con la presencia de aves migratorias y las importaciones de aves y otros materiales se corra un gran riesgo de introducción de I.A. en nuestro territorio. Además cabe resaltar, que se han presentado casos de problemas con sintomatología clínica respiratoria en granjas de reproductoras de la provincia de Soto de los que hasta el momento no se ha determinado diagnóstico alguno.

Hasta la fecha en Santander no se conocen reportes sobre un estudio como el aquí planteado, por medio de la prueba de ELISA para esta enfermedad en los

planteles de reproductoras, en una región tan importante en la avicultura Santandereana como lo es la Provincia de Soto.

Los últimos reportes del instituto colombiano agropecuario (ICA), indican que Colombia es un país libre de influenza aviar (IA). Los resultados de los 25 mil sueros examinados, desde 1997 hasta el 2001, por la técnica de inmunodifusión en agar gel, (AGID-prueba estándar OIE) procedentes de diferentes regiones ha sido negativos.

9.3 FUNDAMENTOS TEÓRICOS: Teóricamente la investigación se fundamentó en varios autores entre ellos. Dennis Alexander, sobre influenza aviar en general, Ilaria Capua, en cuanto a epidemiología de la influenza aviar; Manuel Pizarro, importancia de la influenza aviar en avicultura; David Rives, Conceptos básicos para entender las pruebas serológicas; Nestor Mossos, Sobre la importancia de la influenza aviar como enfermedad exótica para Colombia; Joachim Otte, En el diseño para la investigación; David Swayne, Patología, patogénesis y diagnóstico de la influenza aviar entre otros.

9.4 METODOLOGÍA: El estudio se desarrolló en la provincia de Soto, localizada en el noreste del departamento de Santander, sobre la vertiente occidental de la cordillera oriental, entre las siguientes coordenadas: noroccidental, (Rionegro) 73,78 grados longitud oeste y 7,72 latitud norte; oriental (Vetas) 72.86 grados longitud oeste y 7.71 latitud norte; norte (Playón) 73.20 grados longitud oeste y 7.71 grados latitud norte; y al sur (Los Santos) 73 grados longitud oeste y 6 grados latitud norte. Incluye quince (15) municipios, dentro de los cuales Bucaramanga y su área Metropolitana: Floridablanca, Piedecuesta, Girón. Lebrija, Los Santos, Tona, Charta, Vetas, California, Matanza, Santa Barbara, Rionegro, El Playón y Suratá. El área total es de 556.245 hectáreas. La Provincia de Soto presenta una topografía muy accidentada perteneciendo a la región natural denominada Montaña Santandereana Norte, el relieve y la altura sobre el nivel del

mar (510 mts. snm en el Playón hasta 3.300 mts. snm en Vetas.) Determinan gran variedad de microclimas que van desde áreas de páramo en la cordillera oriental hasta áreas calidas pertenecientes a las vegas de los ríos Sogamoso, Lebrija y Cáchira.

La población a la cual se dirigió el estudio esta representada por las aves reproductoras del género Gallus Domesticus de granjas ubicadas en la provincia de Soto-Santander, donde la población de este tipo de aves es de 1.419.350 aves, según datos del censo realizado por el ICA.

El procesamiento de las muestras inició con la separación de los sueros en el centro de diagnostico del Instituto Colombiano Agropecuario (I.C.A.) de Bucaramanga. Posteriormente se enviaron lo sueros al laboratorio del ICA-CEISA en Bogota, para realizar la prueba de inmunodifusión en agar gel (IDAG).

Distribución de las granjas de reproductoras por municipio en Santander

| MUNICIPIO | No. DE GRANJAS | PORCENTAJE DE RELATIVIDAD (%) |
|-------------------|----------------|-------------------------------|
| Aratoca | 2 | 4 |
| Curiti | 2 | 4 |
| Floridablanca | 2 | 4 |
| Giron | 2 | 4 |
| Lebrija | 23 | 46 |
| Los Santos | 11 | 22 |
| Oiba | 1 | 2 |
| Piedecuesta | 5 | 10 |
| Tona | 1 | 2 |
| Valle de San José | 1 | 2 |
| TOTAL | 50 | 100 |

TAMAÑO DE LA MUESTRA

El tamaño de la muestra se determinó en base a la población total de reproductoras en la región, teniendo en cuenta el censo que posee el ICA de estas explotaciones avícolas. El tamaño de la muestra requerido para detectar la presencia de la enfermedad se calculó con un grado de confianza del 95% ($e=0.025$) y una prevalencia límite para la enfermedad de 0.073% dato tomado del trabajo realizado por Mojica y Norato. ya que la influenza aviar se considera como enfermedad exótica para la avicultura Colombiana.

El tamaño de la muestra se obtuvo por la siguiente fórmula:

$$n = \frac{N \times z^2 \cdot p \cdot q}{z^2 \cdot p \cdot q + e^2(N - 1)}$$

De donde: Retomando que la I.A. es considerada como una enfermedad exótica en el país tenemos:

N: población total 1.419.350 aves

z: Grado de confianza 95% ($e=0.025$)

p: Prevalencia de positivos fijada como límite: 0.073% (0.00073)

q: Prevalencia de negativos: $(1-p) = (1-0.00073) = 0.99927$

n: Tamaño de la muestra

Aplicando la fórmula se obtiene un valor de $n = 448$ muestras, que es el mínimo número de aves a examinar para una reactividad serológica de 0.073%, con un

95% (0.95) de probabilidad de que aparezcan uno o mas reactores positivos entre los animales examinados.

Debido a la forma reservada como se maneja la avicultura tecnificada y por bioseguridad a nivel de granja, no se permite el ingreso y menos la manipulación de las aves por parte de particulares, además se presenta dificultad para el transporte a las diferentes granjas.

De ésta manera, al depender del ICA como autoridad sanitaria, el muestreo se realizó aprovechando las visitas a las granjas que en el momento estaban programadas para ser inspeccionadas dentro del proyecto de Salmonelosis que desarrolla esta entidad. Circunstancia por la cual se dificultó aplicar otro tipo de distribución para la obtención del tamaño muestral requerido para este estudio.

El numero de granjas y de aves a examinar por granja se determino con base en la descripción realizada por la ANECA sobre el brote ocurrido en México en 1995. Así, se decidió tomar un número de 30 muestras por granja, sin importar la población total de la granja, lo que resulto en un número de 15 granjas a muestrear en total.

Se examinaron 38 lotes de reproductoras localizadas en los municipios de Girón, Lebrija, Los Santos y Tona, ubicados en la Provincia de Soto de los cuales Lebrija y Los Santos poseen el mayor número de granjas reproductoras en la Provincia y en Santander.

PROCESO DE TOMA DE MUESTRAS

La selección para el muestreo se realizo al azar, tomando la cantidad de muestras de sangre de las aves requeridas por cada granja, teniendo en cuenta la fase de

producción en que se encontraban al momento de tomar las muestras clasificándolas así:

Levante: entre 0 y 20 semanas.

Producción: mayores de 20 semanas.

La presencia de un número mayor de aves en etapa de producción incrementa la probabilidad de encontrar reactores positivos a la enfermedad debido a que estas aves por el tiempo transcurrido de su ciclo de vida han estado expuestas a un riesgo mayor de contaminación por la diferentes enfermedades.

La forma como se recolecto la sangre fue por punción en la vena alar, con agujas estériles en tubos o frascos estériles sin anticoagulante, para la colecta de 2 ml de sangre como mínimo. Esta muestra debe reposar en posición oblicua entre 15 y 30 minutos, los frascos o tubos fueron rotulados con su respectiva identificación En cada granja se diligencio el formulario de toma de muestras.

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

En el laboratorio del centro de diagnóstico del ICA. Bucaramanga, se centrifugaron las muestras a 1500 revoluciones durante 10 minutos y los sueros se transvasaron a viales plásticos que se mantuvieron en congelación a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$, hasta su envío al laboratorio del ICA-CEISA en Bogota, donde se realizo la prueba de inmunodifusión en Agar gel.

Registro de necropsia

Uno de los objetivos del presente estudio planteaba la realización de necropsia a las aves que presentaran sintomatología clínica respiratoria donde existiera mortalidad significativa en el momento de realizar el muestreo, para hacer un

registro comparativo de las lesiones encontradas con respecto a las producidas por virus de IA.

No se encontraron aves con este tipo de problema en las granjas muestreadas, por lo tanto no se realizaron necropsias.

Se realizó una clasificación a modo de atlas, con imágenes de las lesiones macroscópicas y microscópicas causadas por el virus de influenza aviar en los diferentes sistemas anatómicos de las aves afectadas, que además del contenido del marco teórico representa una valiosa fuente de información y consulta sobre este importante tema.

9.5 ANÁLISIS DE RESULTADOS: Los resultados obtenidos coinciden con trabajos realizados anteriormente sobre este tema por Bustos en 1988 y 1998 en los que se evaluó la posible participación de algunos agentes etiológicos en el síndrome de cabeza hinchada sobre una población de 80 aves provenientes de ocho planteles avícolas comerciales buscando específicamente la presencia de reactores positivos a influenza aviar y en 93 aves silvestres nativas y exóticas en cautiverio, pertenecientes a un zoológico de Cundinamarca; y en el trabajo realizado por Mojica y Norato 1999, que trato de una evaluación serológica sobre un total de 4173 sueros, distribuidos en 173 granjas ubicadas en los departamentos de Cundinamarca, Boyacá, Tolima, Santander, Santander del Norte, Antioquia, Magdalena, Caldas, Risaralda y Valle del Cauca; zonas en las cuales se ha determinado que existe la mayor población de aves pertenecientes al genero Gallus Domesticus en Colombia ; trabajos en los que tampoco se encontró presencia de reactividad serológica frente a infección por virus de IA.

La decisión de usar la técnica de inmunodifusion en Agar gel, se apoyo en su disponibilidad, sencillez de procedimiento y economía con respecto a otras técnicas serológicas como ELISA. Además, ofrece niveles aceptables de

especificidad (96.5 – 97%) y sensibilidad (92%), y por ser la prueba estándar de referencia para influenza aviar ante la OIE.

Igualmente en los trabajos realizados por Bustos y Mojica y Norato en el país, y de manera similar en otros países como México en 1995 se ha utilizado la prueba IDAG para determinar a través de estudio serológico la presencia de anticuerpos contra la influenza aviar.

La no presencia de reactores positivos a influenza aviar da una base para afianzar el diagnóstico de otras enfermedades como el Newcastle (cepas velogenicas), la bronquitis infecciosa y laringotraqueitis que producen problemas respiratorios, morbilidad y mortalidad parecidos a los causados por IA. También es importante resaltar que el ingreso de influenza aviar a la avicultura de la región, no necesariamente exhibiría signos característicos de enfermedad respiratoria con alta morbilidad y mortalidad, si no que también se presentan formas silenciosas de la enfermedad con virus de baja patogenicidad potencialmente peligrosos por su capacidad de mutación a virus de alta patogenicidad.

Los problemas respiratorios sugieren una posible combinación de la infección con los virus de la Bronquitis Infecciosa y/o Newcastle actuando con bacterias como E. Coli y Micoplasmas, lo que puede conformar una mezcla agresiva y de gran capacidad para ocasionar problemas respiratorios marcados con aumento de morbilidad y mortalidad.

Los resultados obtenidos en el presente estudio ofrecen un argumento para seguir considerando libres o ausentes de influenza aviar los planteles de reproductoras de la región comprendida por la Provincia de Soto, pese a todos los factores de riesgo implicados como la apertura de los mercados entre los países vecinos y el mercado no formal (contrabando) de insumos, productos y subproductos avícolas.

9.6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados del estudio serológico realizado en explotaciones avícolas de reproductoras en la provincia de Soto fue de negatividad para la presencia de anticuerpos contra el virus de influenza aviar.

La influenza aviar es considerada como exótica para todo el territorio Colombiano, sin embargo, la vigilancia epidemiológica es fundamental para la detección temprana de la actividad viral y evitar la diseminación del virus, y en caso de detectarse la enfermedad, nos permitirá conocer la población en riesgo, el posible origen, establecer la distribución de la enfermedad, conocer las condiciones de la población en riesgo, diseñar medidas de control adecuadas y otros.

Con este trabajo se confirma que hasta el momento de finalizado el estudio no hay presencia del virus de influenza aviar en las explotaciones de reproductoras del género *Gallus domesticus* en la Provincia de Soto Santander, y por lo tanto no hay ninguna relación de esta enfermedad con los problemas de tipo respiratorio que se han presentado en la zona.

El resultado obtenido indica que las acciones encaminadas a evitar el ingreso de la enfermedad en la avicultura nacional han sido de gran importancia, y que las medidas de bioseguridad a nivel de granja para tal propósito son manejadas adecuadamente.

La utilización de la prueba IDAG que es la establecida para monitoreos en países libres para la enfermedad es adecuada en este tipo de estudios para evaluar el estado inmunológico de las aves frente a la influenza aviar, ya que esta técnica ofrece niveles de especificidad y sensibilidad aceptables, es económica y fácil de desarrollar.

Un aspecto importante a tener en cuenta es la necesidad de realizar monitoreos frecuentemente con este tipo de estudios en poblaciones de aves silvestres y migratorias que representan gran riesgo por ser portadoras y diseminadoras de la enfermedad. Igualmente, se debe realizar vigilancia de las aves de traspatio debido a que permanecen en lugares abiertos, facilitando el contacto directo con aves silvestres y migratorias.

Las medidas de bioseguridad son un aspecto prioritario, por lo que es indispensable hacer divulgación de las mismas a todo el personal que esta en contacto con las aves y una excelente implementación a nivel de granja, de tal forma que se logre una reducción en el riesgo de introducción y diseminación del virus si se llegara a presentar.

El monitoreo frecuente de las explotaciones y el reporte oportuno de la enfermedad, constituyen la mejor manera de prevenir la entrada de IA a Colombia, sin embargo, otro aspecto que se debe tomar en consideración es la necesidad de contar con un laboratorio con tecnología de punta con personal calificado en el país para realizar las pruebas especializadas para aislamiento e identificación del virus de Influenza aviar. Igualmente se requiere que los profesionales a nivel de campo estén capacitados para correlacionar la existencia de morbimortalidad, problemas respiratorios o de baja producción en las granjas con la información suministrada por el laboratorio, y de esta forma tener un gran respaldo si se llegara a presentar un episodio de la enfermedad.

Por otra parte, se debe hacer una revisión mas a fondo de los problemas respiratorios que se presentan en la región, dirigida al estudio de las enfermedades que participan en el complejo respiratorio, que para Colombia son el Newcastle, Bronquitis Infecciosa, Colisepticemia, Micoplasmosis, laringotraqueitis, pasteurelosis y coriza.

La vacunación como método preventivo contra el ingreso de IA en Colombia no es recomendada debido a la gran capacidad de recombinación que tiene el virus, lo que hace que sea imposible disponer de vacunas que protejan contra todas sus posibles variantes, por lo que vacunando, no se aseguraría que no se presente la enfermedad. Además la vacunación sería interferencia para realizar acciones que deben aplicarse en programas de prevención y control como lo son los chequeos serológicos.

En Colombia, la industria avícola se a desarrollado de forma importante en las ultimas décadas y a logrado abrir mercados internacionales, por lo que se debe tener conciencia de los riesgos de introducción de la influenza aviar y mas aun de que la enfermedad se puede presentar con toda su problemática tanto sanitaria como legal, por esto es importante que el país en la parte avícola este preparado política, económica y científicamente para poder contrarrestar las dificultades que significaría la presentación de la influenza aviar.

Finalmente, vale la pena recordar que la influenza aviar es un grave problema para la industria avícola a nivel mundial, ocasionando grandes perdidas económicas por su devastador efecto y siendo causa de restricciones al comercio entre países. Por todo lo anterior, frente al riesgo de ingreso de la influenza aviar a Colombia, así como de otras enfermedades que puedan afectar la sanidad y la producción avícola, hay que tomar conciencia de que todo esfuerzo encaminado a la prevención como los son las practicas de bioseguridad, siempre serán inversiones y no costos inoficiosos o de menor importancia.

10. LUGAR: Planteles de aves reproductoras del género Gallus Domesticus pertenecientes a la Provincia de Soto Santander.