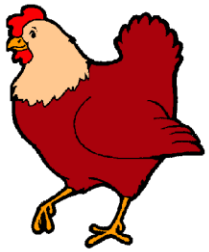
GOBIERNO DE LA REPÚBLICA DE GUATEMALA
MINISTERIO DE AGRICULTURA GANADERÍA Y ALIMENTACIÓN

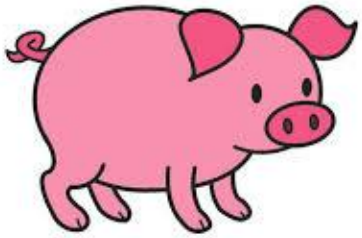
Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación

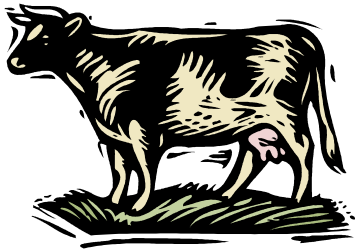
Pruebas diagnosticas para Enfermedades Aviares bajo control oficial

M.V. Juan Pablo del Aguila Padilla

Enfermedades bajo Vigilancia de los Servicios Veterinarios Oficiales







Influenza Aviar

Newcastle

L.T.I.

Salmonelosis (S. pullorum y S. gallinarum)

PRONASPORC

Brucelosis

Tb

Rabia

Uso de las pruebas diagnósticas

Aplicación

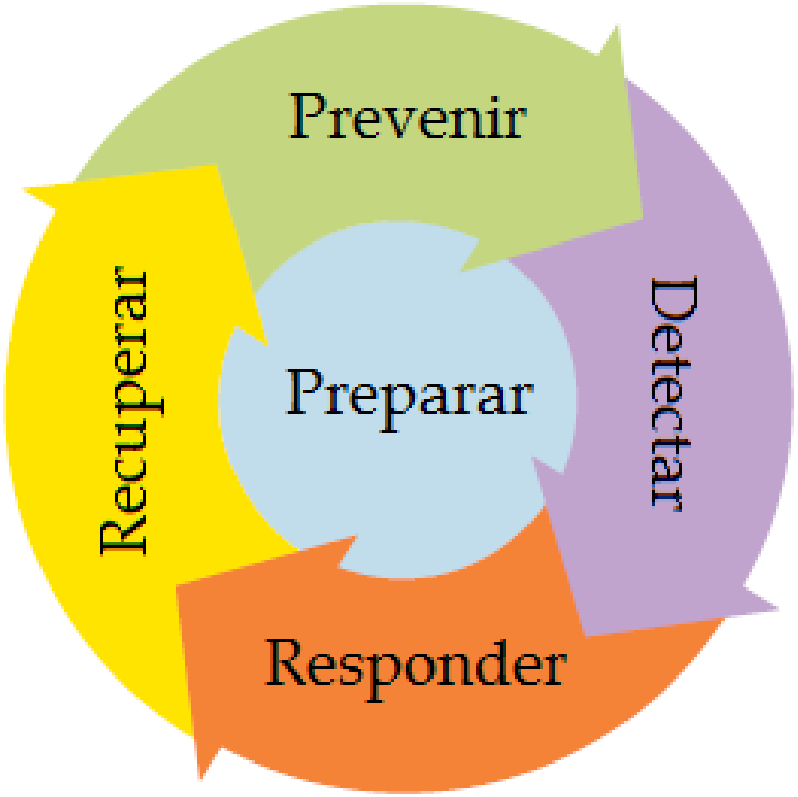
PL, PE, PC, VEP, Denuncia, Brote.

Factores

- **Costo: BARATO**
- **Sensibilidad: ALTA**
- **Especificidad: ALTA**
- **Velocidad: RAPIDA**
- **Complejidad: SIMPLE**
- **Recurso humano capacitado**
- **Práctica para alto # de muestras**
- **Validada internacionalmente**

GOBIERNO DE LA REPÚBLICA DE GUATEMALA
MINISTERIO DE AGRICULTURA GANADERÍA Y ALIMENTACIÓN

Ciclo de la Vigilancia Epidemiológica



Escritura de
Planes de emergencia

Fuente FAO, Good emergency management practice

GOBIERNO DE LA REPÚBLICA DE GUATEMALA
MINISTERIO DE AGRICULTURA GANADERÍA Y ALIMENTACIÓN

Estrategias de erradicación

1. **Educación sanitaria**
2. **Bioseguridad** (compra-venta, manejo de la movilización, limpieza y desinfección)
3. **Diagnóstico y vigilancia epidemiológica**
4. **Eliminación de animales infectados**
5. **Disminución de la susceptibilidad en los huésped** (vacunas / vacunación y resistencia genética en el huésped)

Fuente: Swayne D., Spackman E. Current Status and Future Needs in Diagnostics and Vaccines for HPAI. 2012.

31 HPAI Epizootics Since 1955

1. 1959: Scotland, H5N1
2. 1961: S. Africa, H5N3
3. 1963: England, H7N3
4. 1966: Canada, H5N9
5.1975: Australia, H7N7
6. 1979: Germany, H7N7
7. 1979: England, H7N7
8. 1983-84: USA, H5N2
9. 1983: Ireland, H5N8
10. 1985: Australia, H7N7
11. 1991: England, H5N1
12. 1992: Australia, H7N3
13. 1994: Australia, H7N3
§14. 1994-95: Mexico, H5N2
§15. 1995 & 2004: Pakistan, H7N3
16. 1997: Australia, H7N4
17. 1997: Italy, H5N2
*§18. 1996-2012: Eurasia/Africa, H5N1 (Panzootic)
19. 1999-2000: Italy, H7N1
20. 2002: Chile, H7N3
21. 2003: Netherlands/Belgium/ Germany, H7N7
22. 2004: USA, H5N2
23. 2004: Canada, H7N3
24. 2004, 2006: S. Africa, H5N2 (ostriches)
§25. 2005: N. Korea, H7N7
26. 2007: Canada, H7N3
27. 2008: England, H7N7
28. 2009: Spain, H7N7
29. 2011: S. Africa, H5N2 (Ostriches)
30. 2012: Chinese Taipei, H5N2
§ 31. 2012: Mexico, H7N3

*Larger than the other 30 combined
§Vaccine used in the control strategy

Southeast Poultry Research Laboratory

Fuente: Swayne D., Spackman E. Current Status and Future Needs in Diagnostics and Vaccines for HPAI. 2012.

GOBIERNO DE LA REPÚBLICA DE GUATEMALA
MINISTERIO DE AGRICULTURA GANADERÍA Y ALIMENTACIÓN

Pruebas diagnosticas en avicultura

1. **Basadas en poblaciones, no en individuos.**

2. **Dependientes del comercio internacional:**
   A. Mutuo acuerdo (país-país)
   B. Internacional (OIE)

3. **Impacto de resultados inadecuados pueden ser especialmente devastadores**
   A. Falsos positivos pueden conducir a restricciones del comercio (condena al país).
   B. Falsos negativos pueden resultar en retrasos para la implementación de medidas de control sanitario.

Fuente: Swayne D., Spackman E. Current Status and Future Needs in Diagnostics and Vaccines for HPAI. 2012.

GOBIERNO DE LA REPÚBLICA DE GUATEMALA
MINISTERIO DE AGRICULTURA GANADERÍA Y ALIMENTACIÓN

Pruebas diagnosticas en avicultura

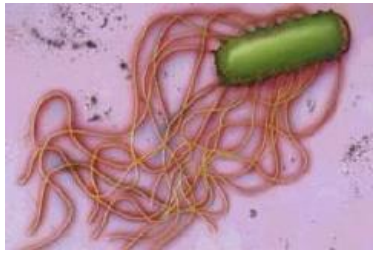
4. **Industria avícola esta basada en márgenes mínimos de ganancia económica:** Diagnostico oportuno y exacto

5. **Innovaciones en pruebas diagnosticas con aplicación en salud publica no son apropiadas para uso en avicultura.**

6. **Muchas innovaciones en pruebas diagnosticas experimentales no son apropiadas para comercio internacional**
   - No prácticas para laboratorios de diagnostico (laboratorios de investigación ≠ laboratorios diagnósticos)
   - No validadas ni estandarizadas

Fuente: Swayne D., Spackman E. Current Status and Future Needs in Diagnostics and Vaccines for HPAI. 2012.

Enfermedades aviares bajo control oficial (A.M. 1528-2003)



Agente etiológico bacteriano

1. Salmonelosis (S. pullorum y S. gallinarum)

Agente etiológico viral

1. Influenza Aviar
2. Newcastle
3. Laringotraqueítis infecciosa aviar

Salmonelosis
(S. gallinarum y S. pullorum)

De acuerdo a la taxonomía actual existen 2 especies importantes (Grimont & Weill, 2007, Guibourdenche *et al*; 2010)

.

1. S. bongori

2. S. enterica

2626 Serovares

Subgénero original		Nomenclatura actual
Subespecie I	=	subespecie *enterica*
Subespecie II	=	subespecie *salamae*
Subespecie IIIa	=	subespecie *arizonae*
Subespecie IIIb	=	subespecie *diarizonae*
Subespecie IV	=	subespecie *houtenae*
Subespecie VI	=	subespecie *indica*

Salmonelosis
(S. gallinarum y S. pullorum)

La serotipificación de acuerdo al esquema de Kauffmann–White, se basa en la extensa diversidad de antígenos (O, F, K) que poseen. **Actualmente existen mas de 2,600 serovares.**

Tifosis Aviar:

Salmonella enterica, subespecie *enterica,* serovariedad Gallinarum biotipo Gallinarum

Pulorosis Aviar:

Salmonella enterica, subespecie *enterica,* serovariedad Gallinarum biotipo Pullorum

Diagnostico serológico.

Sangre entera: antigeno teñido (S. pullorum y S. gallinarum)
Aglutinación sérica (S. pullorum y S. gallinarum)
ELISA (*S*. Enteritidis y *S*. Typhimurium, S. dublin)

Ventajas:

- Detecta portadores crónicos
  - Eliminación intermitente
  - Eliminación de bajo numero de m.o.
- Evita el manejo de muestras de heces
  - Colecta, envío y procesamiento inmediato.
- Mas rápido que el aislamiento bacteriológico
- Se considera de menor costo económico.

GOBIERNO DE LA REPÚBLICA DE GUATEMALA
MINISTERIO DE AGRICULTURA GANADERÍA Y ALIMENTACIÓN

Diagnostico serológico..

Desventajas:

- Baja sensibilidad
  - No detecta infecciones recientes
- Falsos positivos por vacunación con otros serotipos (S. enteritidis)
- Uso a partir de las 4 semanas de edad: interferencia con anticuerpos maternos.
- Depende directamente de la respuesta inmune del huésped: complejidad de la respuesta hacia los diferentes antigenos de la bacteria.
  - Bacteria invasiva: mayor respuesta de AC circulantes
  - Bacteria poco invasiva: menor respuesta de AC circulantes

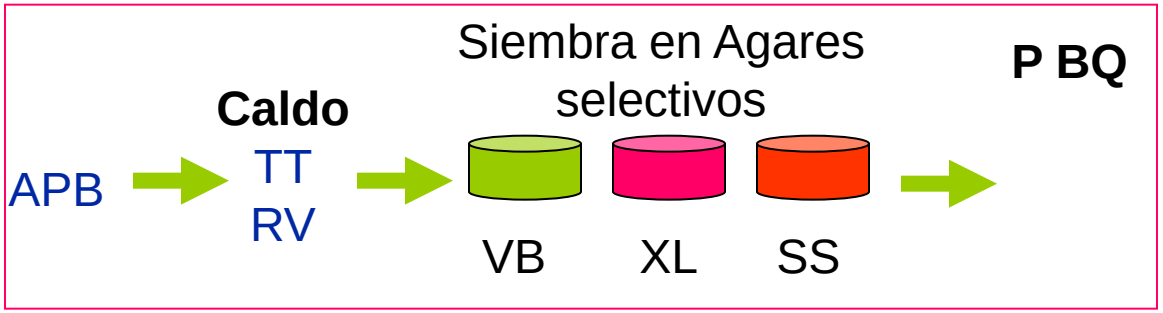
Cultivo bacteriológico

ANIMAL VIVO (menor sensibilidad)

- Material de huevos, meconio, hisopados cloacales.
- Muestreo de galeras: Polvo, Hisopados de arrastre, calzas, pool de heces (25 g)

ANIMAL MUERTO

- A partir de casi todos los órganos, tejidos y heces (hígado, bazo, tracto reproductor, amígdalas cecales,, óvulos y oviducto. Riñón, pulmón, testículos, lesiones articulares).
- Canales frescas
- Huevos frescos



GOBIERNO DE LA REPÚBLICA DE GUATEMALA
MINISTERIO DE AGRICULTURA GANADERÍA Y ALIMENTACIÓN

Cultivo bacteriológico

***Tabla 1**. Investigación bioquímica de Salmonella* Pullorum *y S.* Gallinarum

	Salmonella Pullorum	*Salmonella* Gallinarum
TSI glucosa (producción de ácidos)	+	+
TSI glucosa (producción de gas)	V	–
TSI lactosa	–	–
TSI sacarosa	–	–
TSI sulfuro de hidrógeno	V	V
Gas a partir de glucosa (medio con campana de Durham)	+	–
Hidrólisis de urea	–	–
Descarboxilación de lisina	+	+
Descarboxilación de ornitina	+	–
Fermentación de maltosa	– o más tarde +	+
Dulcitol	–	+
Movilidad	–	–

+ = reacción positiva del 90% o más en 1 o 2 días; – = reacción negativa (90% o más); v = reacciones variables.

Fuente: Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres, Organización Mundial de Sanidad Animal, 2014.

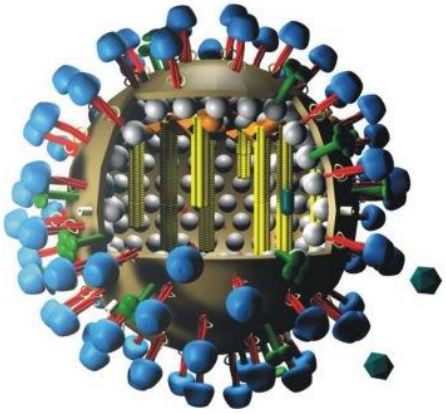
Diagnostico molecular

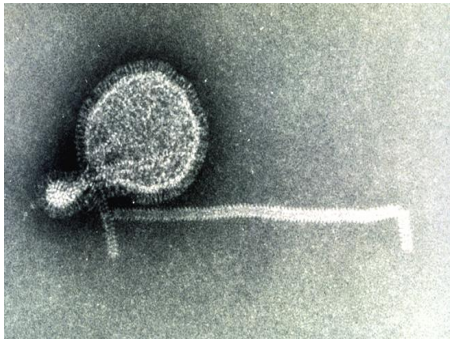
- Perfil plasmídico (genes de virulencia)
- PCR
- Análisis de restricción: Electroforesis en campo pulsado

GOBIERNO DE LA REPÚBLICA DE
GUATEMALA
MINISTERIO DE AGRICULTURA
GANADERÍA Y ALIMENTACIÓN

Virus

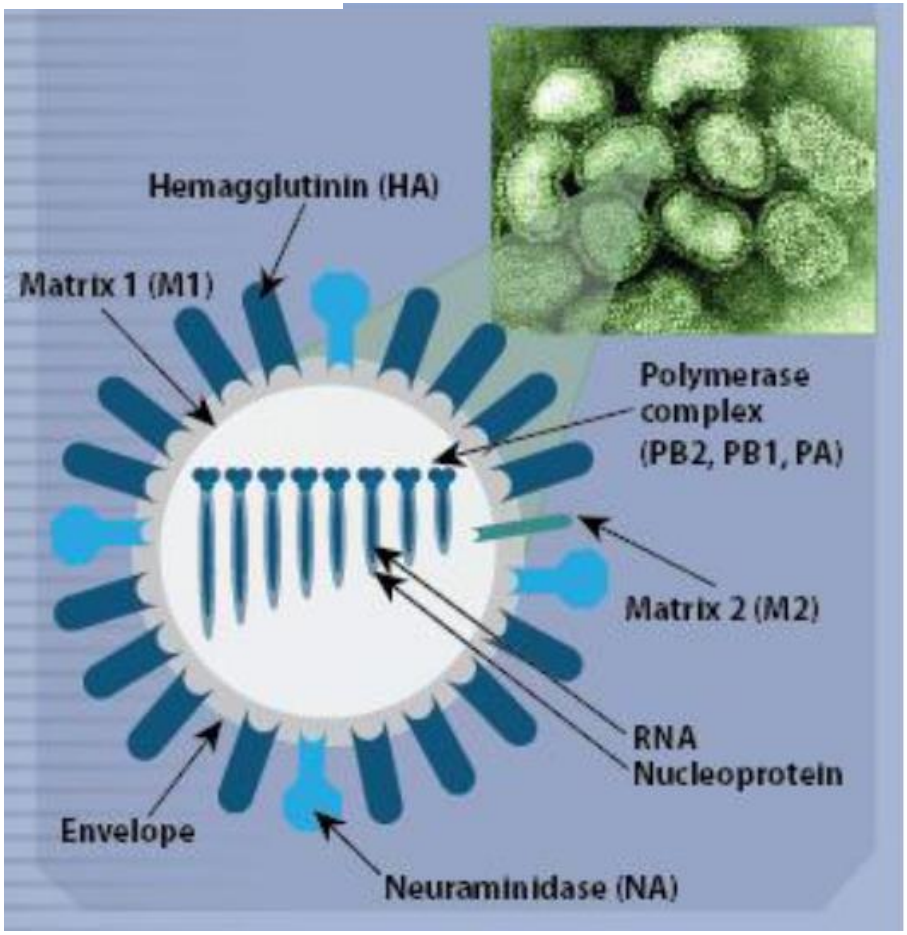
Influenza Aviar
Newcastle
Laringotraqueitis Infecciosa Aviar





GOBIERNO DE LA REPÚBLICA DE GUATEMALA
MINISTERIO DE AGRICULTURA GANADERÍA Y ALIMENTACIÓN

Virus de Influenza Aviar



Familia

Orthomyxoviridae

Genero Influenza A

Virus RNA

Hebra simple

Sentido Negativo

Genoma segmentado

Clasificación de subtipos

Hemoaglutinina: 16 subtipos

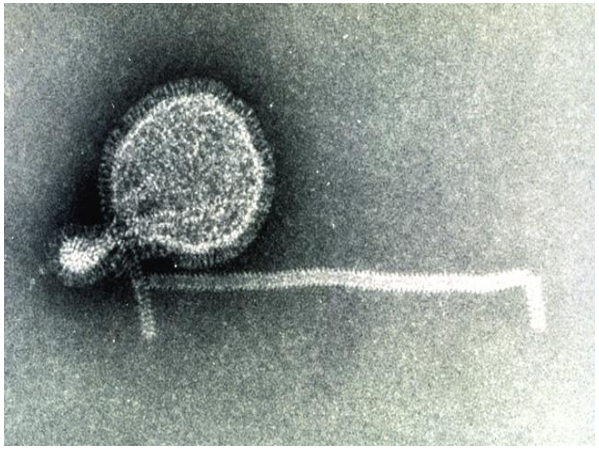
Neuroaminidasa: 9 subtipos

Virus de Newcastle

Familia

Paramyxoviridae

Genero Avulavirus



Virus RNA

Hebra simple

Sentido Negativo

10 serotipos APMV 1 – APMV 10

ENC: APMV 1

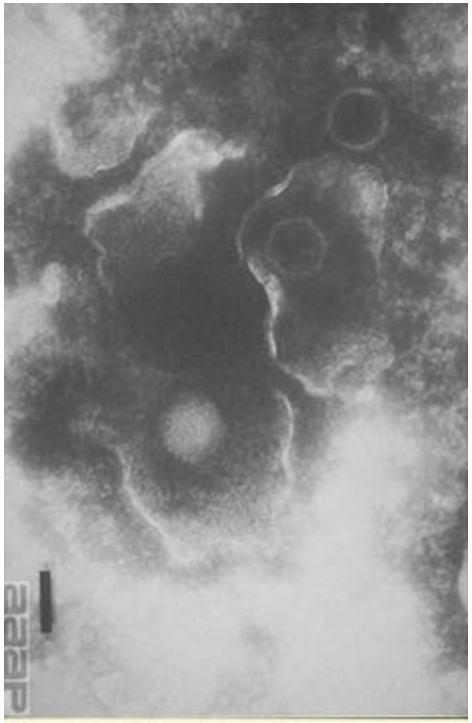
Formas clínicas ENC

- Velogénico (forma mas virulenta)
  - **Viscerotropico: predominan lesiones intestinales hemorragicas.**
  - **Neurotropico: Alta mortalidad + signos respiratorios y nerviosos.**

- Mesogénico (forma intermedia)

- Lentogénico (forma mas benigna)
  - **Forma respiratoria o enterica suave/subclinica**

Virus de LTI



Familia

Herpesviridae

Herpesvirus 1

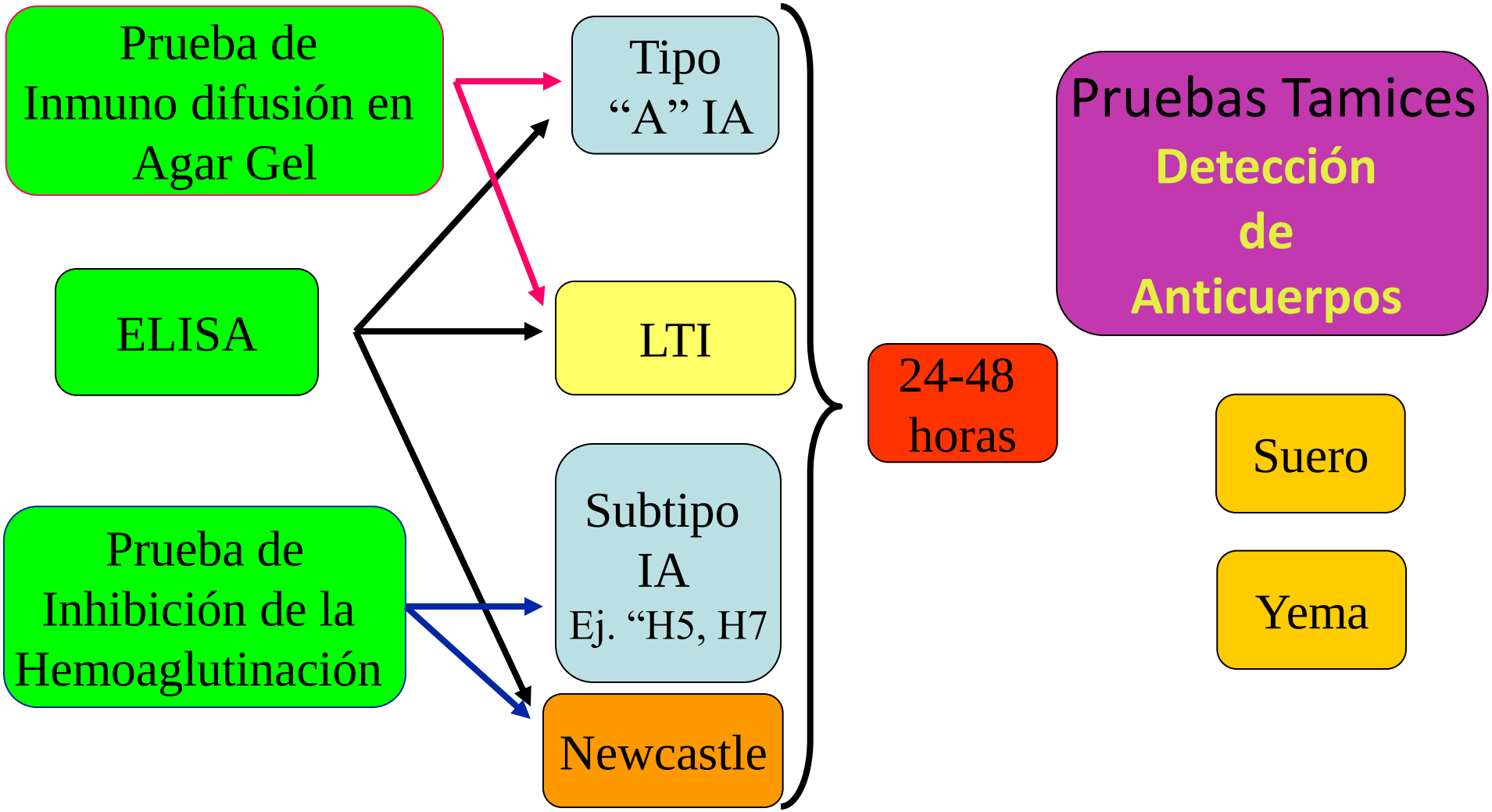
Virus latente

(infección ganglio trigémino)

Lesión mas importante:
traqueitis

Gobierno de Guatemala
Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación

Pruebas diagnosticas: Ac



Gobierno de Guatemala
Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación

Pruebas diagnosticas: Ag

Prueba PCR

IA:
Tipo A
Subtipos

24 - 48 horas

Pruebas confirmativas
Detección de Antígenos

Aislamiento viral

Newcastle

LTI

12 – 15 días

Suero, sangre

Hisopados

Órganos

Aves

Tabla 1. *Métodos analíticos disponibles para el diagnóstico de la influenza aviar y su propósito*

Método	**Propósito**					
	Demostrar ausencia de infección en la población	Demostrar ausencia de infección en animales individuales antes de los desplazamientos	Contribuir a las políticas de erradicación	Confirmar casos clínicos	Determinar la prevalencia de la infección – vigilancia	Determinar el estado inmunitario en animales o poblaciones tras la vacunación
Identificación del agente [1]						
Aislamiento del virus	+	+++	+	+++	+	–
Detección de antígeno	+	+	+	+	+	–
RT-PCR en tiempo real	++	+++	++	+++	++	–
Detección de respuesta inmunitaria [2]						
AGID	+ (Influenza A)	+ (Influenza A)	++ (Influenza A)	+ (convaleciente)	++ (Influenza A)	++ (Influenza A)
HI	+++ (H5 o H7)	++ (H5 o H7)	+++ (H5 o H7)	++ (convaleciente)	+++ (H5 o H7	+++ (H5 o H7)
ELISA	+	+	++	+ (convaleciente)	++	++

Clave: +++ = método recomendado; ++ = método idóneo; + = puede utilizarse en algunas situaciones, pero el coste, la fiabilidad y otros factores limitan mucho su aplicación; – = no adecuado para este propósito.
Aunque no todas las pruebas clasificadas como +++ o ++ han sido validadas formalmente, su uso sistemático y hecho de que se hayan utilizado ampliamente sin resultados dudosos las hace aceptables.
RT-PCR = reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa; AGID = inmunodifusión en gel de agar;

GOBIERNO DE LA REPÚBLICA DE GUATEMALA
MINISTERIO DE AGRICULTURA GANADERÍA Y ALIMENTACIÓN

Características de Pruebas diagnosticas

Prueba	Target	Relativa Sensibilidad	Relativa Especificidad	Costo relativo	Tiempo de resultados
HI	•AIV, NCV •Anticuerpo IA, NC	**Alta**	**Moderada a alta**	**Moderada a alta**	**2 horas**
IDAG	•AIV, LTI V •Anticuerpo IA *NP y PM* •Anticuerpo LTI	**Moderada**	**Alta**	**Moderada**	**48 horas**
ELISA (Kits comerciales)	•Anticuerpo IA Tipo A, NC y LTI	**Moderada**	**Moderada**	**Baja**	**2 – 3 horas**
Inmuno ensayos Antigeno (Flu detect)	Proteína IA	**Baja**	**Alta**	**Moderada**	**15 minutos**

GOBIERNO DE LA REPÚBLICA DE GUATEMALA
MINISTERIO DE AGRICULTURA GANADERÍA Y ALIMENTACIÓN

Características de Pruebas diagnosticas

Prueba	Target	Relativa Sensibilidad	Relativa Especificidad	Costo relativo	Tiempo de resultados
A. V.	•Virus viable IA, NC, LTI	**Bastante alta**	**Moderada**	**Alta**	**1-2 semanas**
PCR	•RNA / DNA viable IA NC,, LTI	**Bastante alta**	**Bastante alta**	**Moderada**	**3 horas**

Caracterización Viral	Influenza aviar	IPIV: ≥ 1.2
	Newcastle	IPIC: ≥ 0.7

Histopatología	LTI	Inclusiones intranucleares en células epiteliales traqueales