



MONITOREO DE LOS LOTES DE REPRODUCTORES PARA SALMONELLA, MICOPLASMA E INFLUENZA AVIAR

El Plan Nacional de Mejoramiento Avícola del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (NPIP) es un programa exhaustivo, integral federal, estatal y cooperativo de la industria establecido para erradicar las enfermedades de transmisión vertical en las aves, incluyendo *Salmonella Pullorum* y *Gallinarum* (tifoidea). En años posteriores, también se añadieron al programa *Mycoplasma gallisepticum* y *synoviae* (MG y MS), *Salmonella* Enteritidis (SE) y la Influenza Aviar de baja patogenicidad (LPAI) como un medio para certificar los lotes de reproductores y promover que las aves estén libres de estos patógenos. El NPIP también certifica los métodos para las muestras de diagnósticos específicos para todas las enfermedades del programa. El programa es voluntario, pero sigue siendo el estándar de oro para la certificación de las exportaciones y de las ventas nacionales de reproductores y pollitas comerciales.

Los estándares del programa NPIP y los protocolos de las pruebas pueden revisarse en www.poultryimprovement.org. Otros países y lugares regionales tienen programas similares para la salud avícola para certificar que los lotes de reproductores estén libres de varias enfermedades.

Los siguientes protocolos para las pruebas de las enfermedades y el monitoreo del lote de reproductores están basados en el programa NPIP y su objetivo servir únicamente como una guía. Los desafíos de las enfermedades locales, la disponibilidad del laboratorio y/o los requisitos de exportación o del mercado local pueden requerir pruebas y certificaciones alternativas. **Siga siempre los reglamentos locales con respecto a los protocolos para las pruebas y el monitoreo de los lotes de reproductores.**

INSPECCIÓN VETERINARIA

Todos los reproductores y todas las granjas de origen de los reproductores Hy-Line en los Estados Unidos, son inspeccionados por un veterinario acreditado por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) por lo menos cada 30 días cuando los reproductores se utilizan con fines de exportación. Las aves son examinadas por productividad, signos clínicos de enfermedades y cumplimiento de los reglamentos de bienestar animal. Los gerentes de la granja informan diariamente todos los datos importantes de producción y alertan a los veterinarios si hay una mortalidad mayor, una disminución en la producción de huevos, disminución del tamaño del huevo, o si disminuye el consumo de agua y alimento y/o si hay signos clínicos de enfermedades u otras anomalías en el lote. **Muchas enfermedades importantes son monitoreadas por medio de una por inspección veterinaria regular del lote.**



Sellos NPIP

SALMONELLA ENTERIDITIS

Salmonella Enteriditis (SE) es un patógeno importante que se ha asociado con el consumo de huevos. El control de SE y otras especies importantes de *Salmonella* en los lotes de reproductores es el primer paso para controlar estos patógenos en los lotes de aves comerciales. En otros países, otras especies adicionales de *salmonella* están bajo una supervisión y control por reglamento oficial.

A. Recolección de Muestras

1. Plantas de Incubación

- a. En cada nacimiento, tome muestras de por lo menos una canasta de todas las fuentes de los lotes de reproductores (un hisopo).
- b. Se deben tomar muestras con hisopos del fondo de la canasta de nacimientos, de embriones muertos, y de las cáscaras de huevo.
- c. Los hisopos se colocan en un tubo que contiene el medio apropiado (por ejemplo, leche descremada).
- d. Las muestras son transportadas al laboratorio para llevar a cabo cultivos o pruebas de PCR.

2. Granjas de Reproductores (PS)

- a. Antes de la colocación de los pollitos, tome muestras ambientales con hisopos después de la limpieza y desinfección para verificar que el alojamiento tenga resultados negativos de *Salmonella*.
- b. Haga pruebas del papel de la caja de los pollitos (meconio) y/o de la mortalidad de los pollitos de la primera semana usando cultivos o pruebas de PCR.
- c. Cada 4 semanas: recolecte con hisopos muestras ambientales de la granja de reproductores.
 - En los alojamientos en piso o slat: use hisopos de botas para tomar muestras de las áreas del piso/slat (4 muestras). Use hisopos de barrido para tomar muestras de las bandas de huevo (1 gasa) y de cajas de los nidos (1 gasa).
 - En alojamientos con jaulas: Tome muestras de los pasillos utilizando botines como hisopos (4 muestras). Utilizando hisopos de barrido tome muestras de las bandas que transportan el huevo o de la fosa de gallinaza.
- d. Los hisopos se colocan en un tubo que contiene el medio apropiado (por ejemplo, leche descremada).

B. El estado del lote por *salmonella* debe ser determinado por las pautas de la NPIP:

- a. Si los resultados de los cultivos y/o PCR son negativos, el lote es considerado negativo.
- b. Si las pruebas de PCR son cuestionables, el lote debe descansar.
- c. Si las pruebas de PCR son positivas, haga cultivos de una muestra del medio ambiente.
- d. Si los cultivos de las muestras de medio ambiente son positivos, las colonias deben ser serotipadas para identificar la especie de *salmonella*.
 - Los cultivos pueden repetirse para una verificación, y el lote debe ser tratado como contaminado hasta obtener los resultados de la repetición de los cultivos.
- e. Si la *Salmonella* Enteriditis (SE) es aislada de una muestra ambiental o de otro espécimen recolectado de tejidos intestinales y de otros órganos para hacer cultivos de *salmonella* de 60 aves como se describe a continuación:
 - El tejido intestinal (recolecte por separado de los tejidos de otros órganos para evitar la contaminación) los tejidos del tracto digestivo incluyendo las paredes del buche, duodeno, yeyuno, ceca, amígdala cecal y recto/cloaca.
 - Otros órganos: hígado, corazón, saco pericárdico, bazo, pulmón, riñón, peritoneo, vesícula biliar, oviducto, óvulos o testículos deformes y saco vitelino inflamado o no absorbido. Las muestras de estos órganos se agrupan y procesan como una sola muestra.
- f. Si los cultivos del intestino y de otros órganos son positivos por *S. Enteriditis* o por otras especies de *salmonella* regulada oficialmente, el lote es considerado positivo.

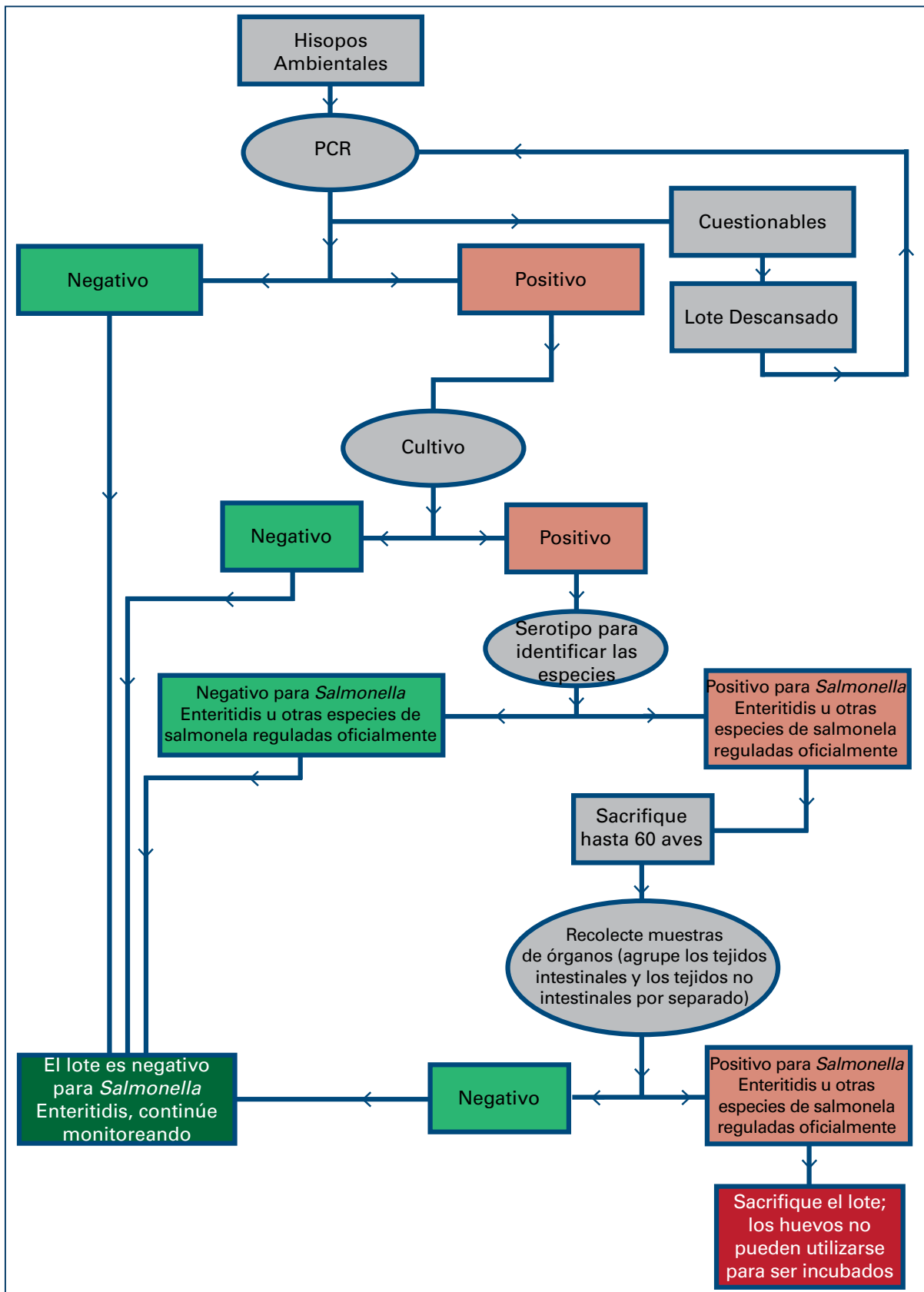


Figura 1. Diagrama de flujo para la vigilancia ambiental de Salmonella.

SALMONELLA PULLORUM Y SALMONELLA GALLINARUM

La *Salmonella* Pullorum causa la enfermedad pullorun (diarrea blanca bacilar) y la *Salmonella* Gallinarum (tifoidea) también causa pérdidas mayores en aves jóvenes. Ambas enfermedades son transmitidas verticalmente, y es difícil hacer cultivos o detectarse de muestras ambientales. Comúnmente, la prueba de vigilancia más utilizada para *S. Pullorum* y *S. Gallinarum* (P-T) es una prueba rápida de aglutinación de sangre completa para detectar la exposición.

1. Se hacen pruebas a 300 aves a las 16 semanas de edad (300 muestras de sangre completa por lote) utilizando la prueba de aglutinación P-T.
2. Se requiere de una nueva prueba únicamente si el lote se mantiene por más de 12 meses
3. Repita las pruebas en el lote después de la primera prueba de las 300 aves (300 muestras de sangre completa por lote) utilizando la prueba de aglutinación P-T.
4. En los lotes vacunados con bacterianas inactivadas o con vacunas vivas de *Salmonella*, deje 350 aves centinelas con una banda de identificación para hacer pruebas a las 16 semanas de edad y nuevamente 12 meses después.
5. El estado de un lote por P-T debe determinarse de acuerdo a los reglamentos de la NPIP:

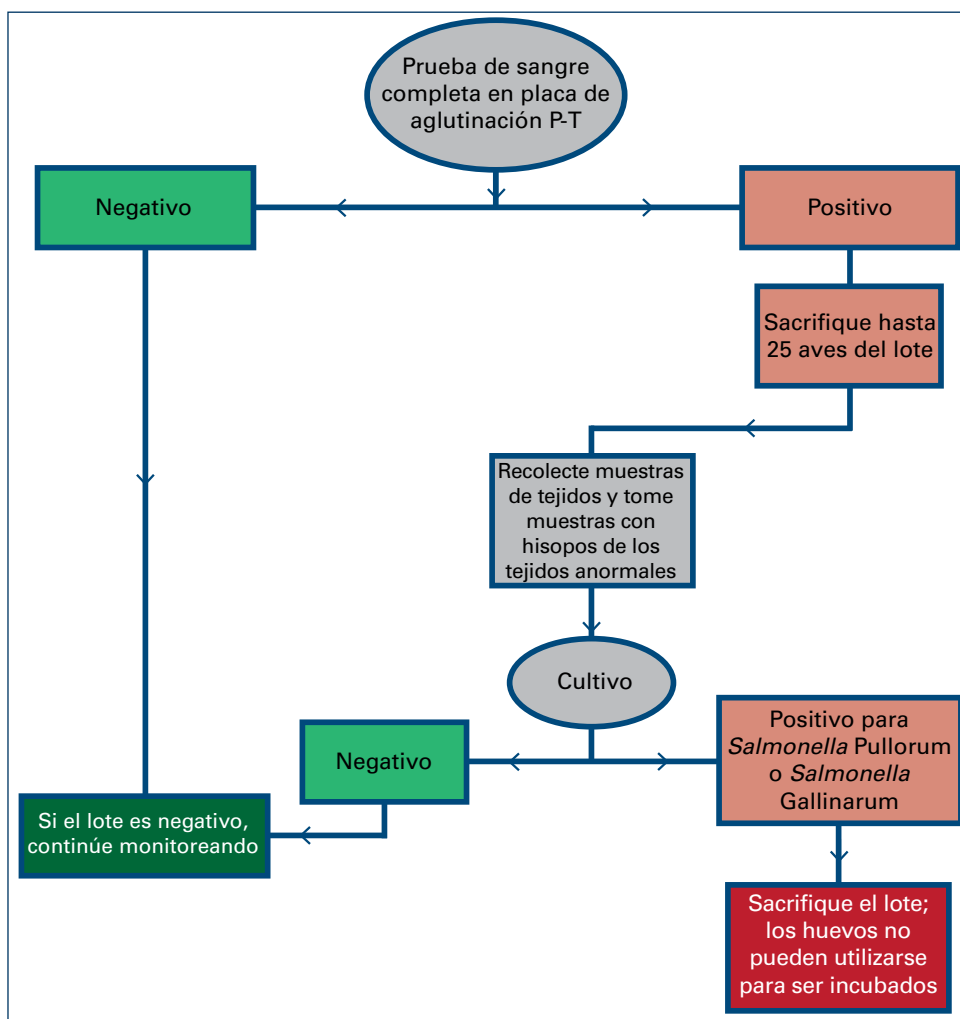


Figura 2. Gráfica de vigilancia para *Salmonella Pullorum/Gallinarum*.

- a. Si toda la sangre en la placa de aglutinación es negativa, se considera que el lote es negativo.
- b. Si toda la sangre en la placa de aglutinación es positiva, sacrifique 25 aves del lote. Recolecte tejidos intestinales y de otros órganos de cada ave par hacer cultivos por *S. Pullorum* y por *S. Gallinarum* como se describe a continuación:

- El grupo de tejido intestinal (recolecte por separado de los tejidos de otros órganos para evitar la contaminación cruzada): Tome muestras de cultivos de la pared del buche, duodeno, yeyuno, ciego, amígdala cecal y recto/cloaca. Estas muestras de órganos se agrupan y procesan como una sola muestra, pero no agrupe muestras de más de un ave.
- El grupo de tejidos de otros órganos (recolectados por separado de los tejidos intestinales para evitar la contaminación

cruzada): Tome muestras de los tejidos de los siguientes órganos: hígado, corazón, saco pericárdico, bazo, pulmón, riñón, peritoneo, vesícula biliar, oviducto, óvulos o testículos deformes y saco vitelino inflamado o no absorbido. Las muestras de estos órganos se agrupan y procesan como una sola muestra, pero no agrupe muestras de más de un ave.

- c. Tome muestras con hisopos de los órganos con deformaciones visibles para hacer cultivos.
 - d. Si los cultivos de los órganos o del intestino son positivos para *S. Pullorum* y *S. Gallinarum*, se considera que el lote es positivo.
6. Si se confirma que el lote de reproductoras es positivo las aves deben sacrificarse de acuerdo a los reglamentos locales.

MICOPLASMA GALLISEPTICUM Y MICOPLASMA SYNOVIAE

El *Mycoplasma gallisepticum* y *Mycoplasma synoviae* pueden transmitirse verticalmente del ave reproductora al pollito, resultando en una mala calidad del pollito, enfermedades respiratorias, sinovitis, y disminución en la producción futura. Los lotes de reproductores que participan en el programa NPIP deben mantenerse limpios de MG y MS.

1. A las 16 semanas de edad, haga pruebas a 150 aves (150 muestras de suero por lote) utilizando suero en placa de aglutinación o utilizando las pruebas de ELISA.

2. Un total de 150 aves analizadas, por medio de una prueba serológica aprobada o por medio de un método molecular tal como la prueba de PCR de hisopos orofaríngeos secos.

3. El estado del lote por MG y MS debe ser determinado de acuerdo a los reglamentos de la NPIP:

a. Si los resultados de las pruebas de ELISA o del suero en placa son negativos, el lote es considerado negativo.

b. Si los resultados de las pruebas de ELISA o del suero en placa de aglutinación son

positivos, se debe llevar a cabo la prueba de inhibición de la hemaglutinación sérica en por lo menos 25 muestras o deben hacerse pruebas moleculares de muestras orofaríngeales tomadas con hisopos. Si las pruebas de hemaglutinación tienen títulos de 1:80 o más, el lote es positivo. Los títulos de 1:40 pueden ser sospechosos y se deben ordenar más pruebas antes de dar el resultado final.

4. En las áreas de alto riesgo, el intervalo de prueba se puede acortar a cada dos semanas para detectar rápidamente la exposición.

5. Los lotes de reproductores que han sido confirmados positivos deben ser sacrificados de acuerdo a los reglamentos locales.

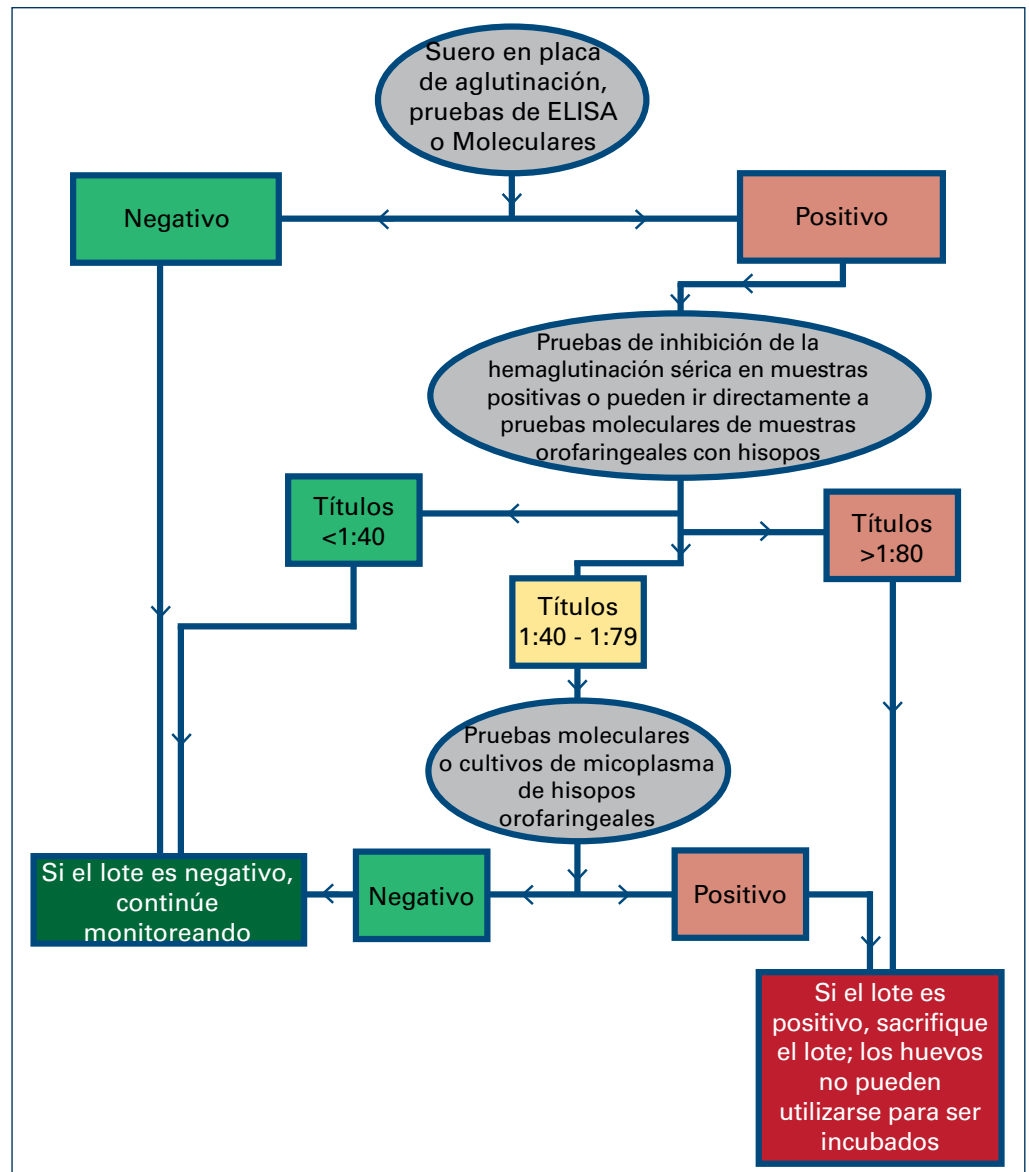


Figura 3. Gráfica de vigilancia para *Mycoplasma*.

INFLUENZA AVIAR

La NPIP añadió la vigilancia de la influenza aviar de baja patogenicidad, para crear un monitoreo reforzado incluyendo la indemnización para los productores que deben sacrificar un lote positivo con H5 o H7 LPAI. A través de la vigilancia de las infecciones de influenza aviar de baja patogenicidad H5/H7 LPAI es más fácil prevenir eventos que pueden resultar en brotes de influenza aviar de alta patogenicidad (HPAI). La respuesta a los brotes de HPAI permanece bajo la autoridades de la USDA-APHIS y se requiere la eliminación controlada de un lote afectado.

1. A las 16 semanas de edad, haga pruebas a un total de 30 aves (30 muestras de suero) utilizando anticuerpos ELISA o Inmunodifusión de Gel Agar (AGID).

2. A las 16 semanas de edad, haga pruebas a un total de 30 aves (30 muestras de suero) cada 90 semanas o 10 aves (10 muestras de suero) cada 30 días utilizando las pruebas de AGID o ELISA.

3. El estado del lote por influenza aviar debe ser determinado de acuerdo a los reglamentos de la NPIP.

a. Si las pruebas de ELISA o AGID son negativas, el lote es considerado negativo.

b. Si los resultados de las pruebas de ELISA, o de AGID son positivos, se deben realizar pruebas de AGID o el procedimiento de un examen molecular (PCR). Utilice hisopos para tomar muestras orofaringeales, agrupe 5 hisopos por 3 ml (o 11 hisopos por 5 ml) en el medio apropiado (Caldo BHI).

c. Si los resultados de las pruebas de AGID o PCR son positivas, las muestras de suero y las muestras de los hisopados orofaringeos/traqueales deben enviarse a un laboratorio nacional reconocido del país de origen para su verificación y serotipificación (en los Estados Unidos, envíe las muestras al Laboratorio Nacional de Servicios Veterinarios, NVSL).

4. En las áreas de alto riesgo, el intervalo de pruebas debe ser más corto para detectar rápidamente la exposición.

5. Los lotes que han sido confirmados positivos para LPAI Pueden ser sacrificados de acuerdo a los reglamentos locales.

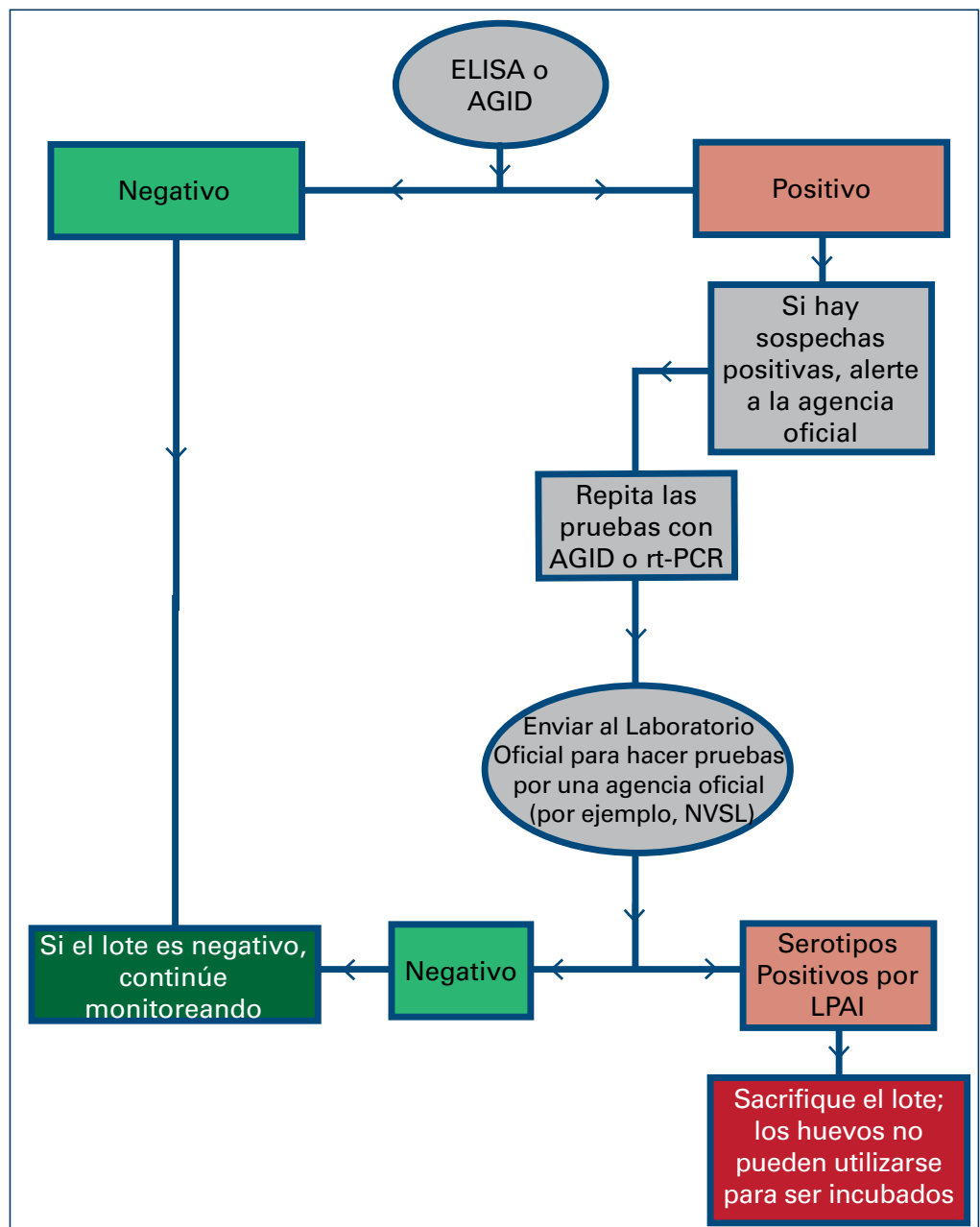


Figura 4. Gráfica de vigilancia para Influenza Aviar.

PROGRAMA DE VIGILANCIA

A continuación tenemos un ejemplo de un programa de vigilancia para monitorear los lotes de reproductoras por las enfermedades mencionadas.

	Patógeno			
	<i>Salmonella</i> Enteritidis (SE)	<i>Salmonella</i> Pullorum & Gallinarum (P-T)	<i>Mycoplasma gallisepticum</i> & <i>synoviae</i> (MG/MS)	Influenza Aviar (AI)
Tipo de Muestra	Hisopos ambientales	Sangre completa	Suero	Suero
Prueba Utilizada	PCR o Cultivo	Antígeno P-T o Sangre completa en placa de aglutinación	Suero en placa de aglutinación o Prueba de ELISA o PCR	ELISA o AGID
Edad en la primera prueba	2-4 semanas*	16 semanas	16 semanas	16 semanas
Primera prueba tamaño de la muestra	Por tipo de instalación (ver texto)	300	300	30
Repetir el tiempo de prueba	Cada 4 semanas	A las 52 semanas después de recibir el resultado de la prueba inicial o un mínimo de 4 semanas después de inducir la muda cuando se retiene un lote por más de 12 meses	Cada 12 semanas	Cada 12 semanas
Repetir el tamaño de la muestra de prueba	Por tipo de instalación (ver texto)	300	150	30
Prueba de confirmación del resultado positivo	Cultivo de Salmonela	Cultivo del tejido de órganos	rtPCR o HI	AGID y/o rtPCR (por las autoridades locales)

*También se deben recolectar muestras de los papeles de las cajas de los pollitos y de la mortalidad de la primera semana después del nacimiento, a menos que provengan de un lote de reproductores con certificación de estar limpios de SE.

LAS MEJORES PRÁCTICAS DE VIGILANCIA

Un programa de vigilancia más riguroso requiere una mayor inversión, pero esto permite una identificación más rápida de las amenazas de las enfermedades potenciales. Haciendo pruebas con mas frecuencia, tomando muestras más grandes y utilizando pruebas de detección más sensibles se puede obtener una respuesta más rápida y limitar el daño a la continuidad del negocio, asegurando la confianza del cliente y las relaciones públicas. Seleccionando un protocolo de pruebas intensivas puede ser muy ventajosos si localmente hay alguna enfermedad en particular de mayor prevalencia. Siga siempre los reglamentos locales con respecto a los protocolos de monitoreo y pruebas en los lotes de reproductores como una guía mínima.

PARA MAYOR INFORMACIÓN

Plan Nacional de Mejoramiento Avícola (NPIP)

www.poultryimprovement.org

Agencia Canadiense de Inspección de Alimentos (CFIA) Programa de la Planta de Incubación

<http://www.inspection.gc.ca/animals/terrestrial-animals/hatchery/eng/1490636818761/1490636819401>

Consejo Británico de la Industria de Huevo "Lion Code"

<http://www.britisheggindustryCouncil.co.uk/british-lion-code-of-practice/>

Departamento para el Medio Ambiente, Granjas y Asuntos Rurales (DEFRA) Esquema de Salud Avícola del Reino Unido (UK)

<https://www.gov.uk/guidance/poultry-health-scheme-how-to-register>

Boletín Técnico, Manera Apropiaada para Recolectar y Manejar las Muestras para Diagnósticos

- Primera Parte: Serología y como Tomar Muestras de Sangre
www.hyline.com/userdocs/pages/TU_SER1_SPN.pdf
- Tercera Parte: Hisopos
www.hyline.com/userdocs/pages/TU_SER3_SPN.pdf



REFERENCIAS

1. USDA-APHIS. "Part 145 - National Poultry Improvement Program or Breeding Poultry". Electronic Code of Federal Regulations. U.S. Government Publishing Office. 2017. <https://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=f7f70f0e0573ba9852400ac93b908a7d&mc=true&node=pt9.1.147&rgn=div5>
2. USDA-APHIS. "Part 147 – Auxiliary Provisions on National Poultry Improvement Plan". Electronic Code of Federal Regulations. U.S. Government Publishing Office. 2017. <https://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=f7f70f0e0573ba9852400ac93b908a7d&mc=true&node=pt9.1.147&rgn=div5>
3. USDA-APHIS. National Poultry Improvement Program Standards. U.S. Department of Agriculture. 2017.



Hy-Line International | www.hyline.com

