



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Estudios Superiores
"Cuautitlán"



25
24

MANUAL DE TECNICAS Y PROCEDIMIENTOS
APLICADOS AL DIAGNOSTICO DE LAS
ENFERMEDADES DE LAS AVES

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A N

FRANCISCO JAVIER HERNANDEZ COPCA
REYES CEDILLO PAZ

ASESOR: MVZ. CARLOS AVILA ARRIOLA

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR FACULTAD DE ESTUDIOS
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

"Manual de técnicas y procedimientos aplicados al diagnóstico de las enfermedades de las aves"

que presenta el pasante: Francisco Javier Hernández Copca
con número de cuenta: 8411919-7 para obtener el TITULO de:
Médico Veterinario Zootecnista

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 7 de junio de 1996

PRESIDENTE	Dr. Ariel Ortiz Muñiz	
VOCAL	MVZ José Ortega Sánchez de Tagle	
SECRETARIO	MVZ, Carlos Avila Arreola	
PRIMER SUPLENTE	MVZ, Juan Monroy Juárez	



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
 UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES S. A. M.
 FACULTAD DE ESTUDIOS
 SUPERIORES DE VETERINARIA

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES
 DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
 P R E S E N T E .



DEPARTAMENTO DE
 EXAMENES PROFESIONALES
 AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
 Jefe del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

"Manual de técnicas y procedimientos aplicados al diagnóstico de las enfermedades de las aves"

que presenta el pasante: Reyes Cedillo Paz
 con número de cuenta: 8538705-0 para obtener el TITULO de:
 Médico Veterinario Zootecnista

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE,
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
 Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 7 de Junio de 1996

PRESIDENTE	Dr. Ariel Ortiz Muñoz	
VOCAL	MVZ. José Ortega Sánchez de Tayle	
SECRETARIO	MVZ. Carlos Avila Arriola	
PRIMER SUPLENTE	MVZ. Juan Monroy Juárez	
SEGUNDO SUPLENTE	M en C. H. Alejandro Martínez Padilla	

En memoria de la mujer, que luchó
en contra de todas las adversidades
para que yo lograra esta meta: Mi
M a d r e .

En memoria de mi hermano Victor
Manuel, a quien seguire recordando
toda la vida.

A ti Padre, muchas gracias.

A mis hermanos: Graciela, Angel, Ana Maria, Ruben, Jaime,
Mireya, Patricia, Yeni.

A todos les doy las gracias.

A Dios, que siempre a estado presente en mi
vida. A Jesus Cristo, quien sera el que ilumine mi cami
no en este mundo.

A mis padres: Hipolito y celia.

A mis hermanos: Ismael,

Silvia,

Ana,

Amelia,

Maria Felix,

Rocio,

Celia

A todos ellos gracias.

INDICE

	Pág.
1.- Introducción.	1
2.- Historia Clínica.	2
2.1.- Historia Clínica mediata.	3
2.2.- Historia clínica inmediata.	6
3.- Selección, obtención, conservación y envío de muestras para el laboratorio.	10
3.1.- Muestreo de aves vivas.	10
3.2.- Muestreo para histopatología.	11
3.3.- Muestreo para virología.	12
3.4.- Muestreo para bacteriología y micología.	12
3.5.- Muestreo para serología.	13
3.6.- Muestreo para parasitología.	15
3.7.- Muestreo para hematología.	15
3.8.- Muestreo para toxicología.	15
4.- Técnica de necropsias en aves.	17
4.1.- Métodos de sacrificio.	17
4.2.- Material de Necropsias.	19
4.3.- Preparación del ave.	19
4.4.- Técnica de necropsias.	20
4.5.- Exploración por aparatos y sistemas.	20
4.6.- Descripción macroscópica de lesiones.	24
5.- Examen clínico.	26
5.1.- Inspección de instalaciones y equipo.	26
5.2.- Inspección de la parvada.	26
5.3.- Inspección clínica individual.	27

	Pág.
6.- Bacteriología general.	30
6.1.- Medios de cultivo.	30
6.2.- Análisis bacteriológico de órganos.	31
6.3.- Pruebas bioquímicas.	31
6.4.- Análisis bacteriológico de alimento.	33
6.5.- Muestreo de ambiente.	33
6.6.- Raspado de superficies.	34
6.7.- Análisis bacteriológico cuantitativo de huevo	34
6.8.- Análisis cuantitativo de plumón.	35
6.7.- Técnica de Gentry.	35
6.7.- Antibiograma.	36
Pruebas para serología.	
7.- Prueba de ELISA.	38
8.- Prueba de Virus Suero Neutralización.	40
9.- Prueba de Aglutinación en placa.	42
10.- Prueba de Inmunodifusión en Agar.	43
11.- Prueba de fijación de complemento.	44
12.- Prueba de inmunofluorescencia.	45
13.- Prueba de peroxidasa.	46
14.- Prueba de hemaglutinación.	48
15.- Prueba de inhibición de la hemaglutinación.	49
16.- Hematología.	51
17- Pruebas de toxicología.	55
15- Literatura citada.	57

INTRODUCCION

En la avicultura de cualquier parte del mundo , pero especialmente en los países en vías de desarrollo, las enfermedades representan una parte muy importante en el renglón de egresos. Como consecuencia de la implantación de los actuales sistemas de producción intensiva en las aves se han provocado diversos problemas sanitarios de tipo viral, parasitario, bacteriano y fungal, que interactúan de manera secuencial o simultánea en una misma población (2, 4, 7, 8, 10).

Aún con el establecimiento de las medidas de prevención y bioseguridad, se pueden presentar en las granjas problemas de salud en las aves, cuanto más pronto se diagnostique y se inicie un tratamiento o control, mayores posibilidades tendrá el productor de reducir sus pérdidas (4, 9, 10).

En la actualidad la industria avícola moderna tiene necesidad de contar con una metodología de diagnóstico que considere los siguientes aspectos: Revisión y análisis de parámetros productivos, historia clínica, examen clínico individual y de parvada, examen de necropsia, selección, envío y conservación de muestras para el estudio del laboratorio y la integración de un diagnóstico final (1, 3, 10).

Con los datos obtenidos por la anamnesis, revisión de registros, examen clínico y necropsia se determinará el diagnóstico clínico presuntivo junto con los posibles diagnósticos diferenciales. En el laboratorio de diagnóstico se procesaran las muestras orgánicas para confirmar o rechazar el diagnóstico presuntivo del transtorno o enfermedad (5,10).

Para la elección de las pruebas de laboratorio se debe considerar la rapidez, precisión, sensibilidad, especificidad, repetibilidad de cada técnica, el alcance de los resultados y la relación costo beneficio (6, 10).

Constantemente las empresas avícolas utilizan el diagnóstico de laboratorio aún cuando no se detecte o perciba algún problema clínico evidente, tal es el caso de los muestreos rutinarios por pruebas serológicas o de histopatología conocidos comunmente como "monitoreo", de esta manera se evalúa permanentemente el grado de inmunidad o el estado de salud de una parvada con el fin de detectar en una etapa temprana cualquier enfermedad que pudiera presentarse, y establecer medidas correctivas forma rápida y eficaz (1, 10).

Con la elaboración del presente manual, se pretende describir, explicar y analizar la metodología del diagnóstico avícola en sus diferentes etapas.

HISTORIA CLINICA

La historia clínica es la recopilación de datos obtenidos sobre hechos relacionados con la presentación de un problema sanitario o de improductividad en las aves (22, 41). Estos datos los podemos obtener mediante un interrogatorio (anamnesis) al dueño o encargado de la parvada (37, 50).

El propósito de la historia clínica es la integración de la información referente de las condiciones sanitarias de la granja y del proceso morboso en un individuo en particular. Además es útil para la formación de archivos referentes a las enfermedades existentes en la explotación o zona y nos orienta en los demás pasos hacia el diagnóstico de las mismas (24, 32, 43).

El valor que pueda alcanzar la historia clínica depende de la información que se obtenga del interrogatorio planteado, por lo que éste debe efectuarse con especial atención para que los datos obtenidos sean importantes y confiables (22, 53).

Condiciones para obtener una historia clínica:

1.- Indagar o investigar de manera amplia y detallada de los sucesos que precedieron al problema.

2.- Durante la anamnesis se debe utilizar un lenguaje claro y sencillo de acuerdo al grado de preparación de la persona a la que esté interrogando, en caso de que se interroge a un casetero, se omitirán términos técnicos

3.- Las preguntas deberán ser formuladas de tal manera que no influyan en la respuesta del interrogado.

4.- Incluir un análisis de las condiciones ambientales de la zona y de las que están relacionadas directamente con la parvada.

5.- Describir de manera clara y completa las condiciones físicas de las aves.

6.- Dar una orientación para realizar el examen clínico, señalando, los aspectos que requieran mayor atención.

7.- Deberá existir congruencia entre los datos proporcionados en la historia clínica y lo observado en la inspección o examen clínico (24, 42).

Para obtener una historia clínica completa y ordenada se debe establecer un sistema y orden que vaya de lo general a lo particular, así no se omitirán datos importantes, por lo que la historia clínica se divide en 2 partes que son: La historia clínica mediata y la historia clínica inmediata (24, 37, 53).

HISTORIA CLINICA MEDIATA.

Esta se refiere a los antecedentes previos a la presentación del problema, en relación con el tipo de granja y finalidad zootécnica (32, 54). Aquí se incluyen los siguientes datos:

Identificación de la granja:

Nombre de la granja, propietario, dirección, teléfono.
Finalidad zootécnica, estirpe del ave en producción.
Casa incubadora de donde proviene el pollito.
Tipo de alimento, modo de almacenamiento y procedencia del agua.
Sistema de explotación.
Padecimientos anteriores.
Estado y orientación de la caseta, distancia entre éstas, cercanía a otras granjas, vías de comunicación.
Tipo de cama utilizada y modo de desinfección.
Descripción de medidas de bioseguridad.
Método de eliminación de cadáveres y desechos.
Presencia de fauna nociva y medidas de control.
Control de entrada y salida del personal y vehículos.

Nombre de la granja, propietario, dirección y teléfono.

Estos datos son de suma importancia, ya que nos permiten ubicar a la granja geográficamente, saber el grado de aislamiento, así como comunicar los resultados obtenidos y ver las condiciones ambientales generales que rodean a la parvada (34).

Finalidad zootécnica, estirpe del ave en producción.

Esto se refiere al estirpe del ave en producción, que puede ser: pollo de engorda, gallina de postura, reproductoras o progenitoras, ya que cada tipo de ave tiene diferente susceptibilidad a las enfermedades (54).

Casa incubadora de donde proviene el pollito:

Es necesario conocer este dato, ya que existen enfermedades de transmisión trasovarica como Salmonelosis o de mal manejo como es la infección del saco vitelino o la aspergilosis que pueden ser adquiridas en la nacedora y esta proporciona una idea de la calidad pollito y del tiempo en que tarda en llegar a la granja. Además de las reclamaciones pertinentes que se hagan a la casa incubadora (24, 42, 54).

Tipo de alimento, modo de almacenamiento y procedencia del agua.

Esto ayuda a conocer la calidad de los ingredientes utilizados en la realización del alimento, conocer su origen y tipo de

almacenamiento, ya que ciertos manejos o irregularidades en la elaboración de los alimentos predisponen, a las aves a deficiencias nutricionales o intoxicaciones, que producen cuadros de inmunodepresión por ejemplo las micotoxinas (aflatoxinas). En cuanto al agua consumida, ya sea de cisterna o pozo esta puede estar contaminada y ser fuente de infección al ave (24, 34, 54).

Sistema de explotación.

Dentro de este hay dos tipos que son: 1) Granja de edades multiples y 2) "Sistema todo dentro, todo fuera".

1) Con este tipo de sistema, se dificulta el control de enfermedades enzoóticas en la granja, ya que favorece la presentación de portadores sanos como en el caso de salmonelosis y pasteurellosis que diseminan la enfermedad a aves jóvenes susceptibles además que dificulta la limpieza y desinfección.

2) Su ventaja es que permite el control de enfermedades enzoóticas y el ciclo de los agentes se interrumpe por la limpieza y la desinfección que se hace frecuentemente en las instalaciones (55).

Padecimientos anteriores.

Hay padecimientos que predisponen a otros, como ejemplo en un brote de infección de la bolsa de Fabricio, predispone a enfermedad crónica respiratoria, enfermedad de newcastle, hepatitis con cuerpos de inclusión (34, 40).

Estado y orientación de la caseta, distancia entre estas, cercanía y relación con otras granjas, vías de comunicación y equipo utilizado en la granja.

La orientación de las casetas es importante, ya que una iluminación o ventilación deficientes pueden resultar en cambios bruscos de la temperatura, como corrientes de aire o a la acumulación de gases (bioxido de carbono, amoniaco) y predisponer a las aves a enfermedades respiratorias.

En cuanto a la distancia entre casetas, se puede decir que si estas están demasiado cerca, se obstruye la ventilación y es más fácil que una enfermedad se difunda rápidamente.

En cuanto a cercanía a ciudades, el problema es más serio, ya que estas crecen demasiado rápido, por lo que la explotación debe de estar lo más distante de asentamientos urbanos. Considerando los límites razonables que garanticen buenas vías de comunicación como son carreteras, teléfono y facilidades de servicio como son agua, luz y drenaje (52).

El saber si ha granjas cercanas y conocer su finalidad zotécnica es de mucha importancia, ya que ha enfermedades que se

transmiten por medio del aire y vectores que pueden pasar fácilmente de una granja a otra. Al igual que si las granjas están situadas por carreteras muy transitadas o cerca a rastros (34, 40, 43).

Tipo de cama y modo de desinfección.

El tipo de cama utilizado puede causar enfermedades como por ejemplo, si se usa cama de cascarilla de arroz, puede favorecer la formación de hongos.

Descripción de medidas de bioseguridad.

El concepto de bioseguridad en una explotación avícola es el conjunto de programas y medidas diseñados con el objetivo fundamental de disminuir la exposición de las aves a agentes infecciosos, así como su salida y evitar la entrada a depredadores naturales (34, 40).

La bioseguridad tiene una proyección más allá de las aves mismas, alojadas en dichas instalaciones, ya que el éxito o el fracaso de un programa de bioseguridad a este nivel no solo se reflejará en el rendimiento de las aves en producción si no que también tendrá un impacto económico y epizootológico importante dentro de la parvada (34).

Método de eliminación de cadáveres y desechos.

Los métodos inadecuados de eliminación de cadáveres y desechos, favorecen la diseminación y persistencia de infecciones e infestaciones en la granja y dentro de la zona.

Presencia de fauna nociva.

Estos pueden ser importantes diseminadores mecánicos de enfermedades, ya que estos pueden alimentarse de desechos de rastros e incubadoras y aves enfermas muertas. Por lo que es necesario saber cuáles son las plagas para su control (34, 40).

Control de entrada y salida del personal y vehículos:

Las personas que visitan a la granja así como los vehículos, deben someterse a un estricto control de entradas y salidas, ya que éstas puede actuar como vectores de contaminación. Es por esto que es necesario saber cuáles son los sistemas de desinfección que se están llevando a cabo en la granja, si existe tapete sanitario, si hay baño por aspersión, etc.

HISTORIA CLINICA INMEDIATA.

La historia clínica inmediata, es un interrogatorio encaminado a obtener información referente al problema actual (53).

Dentro de este apartado los datos importantes son:

- Edad de las aves afectadas.
- Número total de aves y aves por metro cuadrado.
- Casetas afectadas.
- Signos clínicos, inicio, tipo y curso.
- Porcentaje de morbilidad
- Porcentaje de mortalidad.
- Esquema de inmunización.
- Consumo de agua y alimento.
- Revisión de parámetros productivos.
- Llegada de animales nuevos.
- Tratamiento, dosis, vía y respuesta.

Edad de las aves afectadas.

Hay enfermedades que atacan a aves de determinada edad, como por ejemplo, la aspergilosis y la infección del saco vitelino, son padecimientos de pollitos de pocos días de edad, mientras que la leucosis aviar es un padecimiento de aves mayores de 16 semanas (26, 42).

Número total de aves y densidad por metro cuadrado.

Si existe acimamiento aumenta el estrés, baja el consumo de alimento, hay problemas de canibalismo y se dificulta el acceso en comederos y bebederos. En las aves el problema infeccioso se va a difundir más rápidamente y el porcentaje de aves infectadas va a ser mayor, por lo que es recomendable cuidar el número de aves por metro cuadrado. En cuanto al número total de aves nos va a dar una idea de la dimensión del problema que se nos puede presentar (55, 46).

Casetas afectadas.

El número de casetas afectadas, da una idea general de la dimensión del problema y la manera de propagación dentro de la granja. Así permite establecer medidas de prevención de la enfermedad a otras casetas (24).

Signología clínica:

Incluye la descripción y prevalencia de los signos clínicos en la parvada, la duración del cuadro clínico y el número de aves afectadas y el desenlace de la enfermedad (12).

Porcentaje de morbilidad.

Se define como la cantidad de animales afectados, en proporción del número total de animales bajo el mismo riesgo, dándose esto en porcentaje (11). Como es el caso de Bronquitis infecciosa que ocasiona alta morbilidad, o en caso de Laringotraqueitis que tiene una morbilidad muy baja (12, 36, 42).

Porcentaje de mortalidad.

Proporción de animales afectados que mueren (11, 29).

Esquema de inmunización.

La inmunización se refiere a los diferentes métodos que se utilizan para proteger a las aves en contra de un agente infecto-contagioso ya sea viral, parasitario o bacteriano a través de la aplicación de productos biológicos específicos (64).

De acuerdo a lo anterior, es necesario recabar los siguientes datos.

a) Biológicos que se aplicaron. Vacuna de la Enfermedad de Newcastle, Bronquitis Infecciosa, Gumboro, Viruela etc.

b) Edad de inmunización. Por ejemplo la vacuna de Marek se aplica en el primer día de nacida el ave.

c) Vía de administración. Oral en el agua de bebida, subcutánea, intramuscular, ocular, intradérmica (pliego del ala).

d) Tipo de biológico utilizado. Virus activo o inactivo emulsionado.

e) Marca del biológico, número de lote y fecha de caducidad.

f) Tipo de cepa empleada en la inmunización. Por ejemplo en Gumboro, hay cepas fuerte, intermedia y suave.

g) Título del biológico administrado.

h) Duración y severidad del cuadro respiratorio postvacunal, así como el tratamiento administrado para controlar el mismo.

Consumo de agua y alimento.

Se debe determinar si existe disminución en el consumo de alimento, ya que en enfermedades como laringotraqueitis infecciosa, coriza infecciosa y newcastle ocurre una baja en el consumo de alimento, en cambio en síndrome de baja postura no existe lo anterior (40, 53).

En cuanto al consumo de agua éste aumenta en estados febriles, enfermedades por hongos y cuando aumenta la temperatura, como en el caso de estrés por calor.

Revisión de parámetros productivos.

Un sistema de registro, es el conjunto de actividades que se realizan en una granja para obtener datos de la parvada, cuyo

propósito es prevenir y controlar problemas mediante una evaluación parcial o total de los datos obtenidos en relación con el comportamiento de la parvada, en cualquier ciclo que esta se encuentre (55).

Llevar a cabo y conocer los registros de producción, se hace con el fin de proporcionar al dueño de la granja la información clara y completa en una forma resumida. La confiabilidad de estos datos va a repercutir a la toma de decisiones ya sean correctas o incorrectas que pueden afectar la economía de la granja.

Cuando se aplican fórmulas especiales y estas son llevadas en registros, se obtienen datos para representarlos graficamente (55).

En la producción de huevo podemos graficar los siguientes parámetros:

Ciclo de persistencia de la producción de huevo: Es la producción de huevos, sin interrupción durante un período largo desde que se inicia la postura hasta la pelecha.

Peak de postura: Porcentaje más alto de producción de huevo en una parvada, ocurrida entre la semana 28 y 32 de vida de la gallina, cuando el peak es mayor también lo será el número de huevos por gallina encasetada.

Peso de huevo (PH): Es la división entre los kilogramos pesados de huevo y el número de huevos.

$$PH = \frac{\text{Kg. de Huevo}}{\text{Número de huevos}}$$

Producción de gallina encasetada (PGE): Se obtiene de dividir la producción total acumulada entre el número de pollonas instaladas en la caseta, esto es cada mes o cada 10 semanas, desde el principio de la producción.

En pollo de engorda estos son algunos parámetros:

Porcentaje de mortalidad general: Estos datos se utilizan en diferentes ciclos de producción (parciales o acumulados) y podrían ser: porcentaje de mortalidad diaria, semanal, por fase de alimentación o al final del ciclo.

$$M = \frac{\text{Número de aves muertas durante el período}}{\text{Número de aves iniciadas}} \times 100$$

Peso corporal promedio/ave: Esto se obtiene del peso total de venta de la parvada entre el número de aves vendidas.

$$\text{Peso corporal} = \frac{\text{Peso de venta de la parvada (kg)}}{\text{Número de aves vendidas}}$$

Índice de productividad (IP): Es la multiplicación de la ganancia diaria de peso por ave por la viabilidad de la parvada dividiéndole entre el producto del índice de conversión por ave por 10.

$$IP = \frac{\text{Ganancia diaria} \times \text{Viabilidad}}{\text{Índice de conversión} \times 10}$$

El IP en una parvada es de 130, inferior a esto es bajo (52).

Conversión alimenticia comercial: Resulta de dividir alimento consumido (kg), entre los kilogramos del pollo producido.

Llegada de animales nuevos.

Algunas veces las aves recién llegadas, pueden venir enfermas y contagiar a las aves de menor edad, por lo que es recomendable lotificar y así poder evaluar los resultados de un lote en comparación con otros (55).

Tratamiento, dosis, vía y respuesta.

Del tratamiento debemos conocer el tipo de fármaco utilizado, la vía de aplicación utilizada y la duración del tratamiento (24).

SELECCION, OBTENCION, CONSERVACION, Y ENVIO DE MUESTRAS PARA EL LABORATORIO.

La exactitud de un diagnóstico depende de la acertada selección y envío de muestras al laboratorio de diagnóstico. Estas pueden ser: Aves vivas o muertas, órganos, sueros, alimento, agua, cama, vacunas o embriones (36, 70).

Con el fin de evitar pérdidas de tiempo, trabajo y gastos innecesarios, el médico veterinario tiene que conocer la patogenia y el tropismo del agente para realizar su aislamiento a partir de la muestra seleccionada (1, 38, 22.).

La muestra seleccionada debe ser representativa del proceso infeccioso en cuestión, hay que remitir varios especímenes de la misma parvada para que se puede obtener conclusión de ésta a partir de la muestra (70).

Debe ser una cantidad suficiente para que el estudio sea lo más adecuado y completo posible (42)

Tomar la muestra antes de que se haya administrado algún fármaco, ya que en caso de los antibióticos que pueden inhibir el crecimiento de las bacterias.

En el caso de muestras para estudios bacteriológicos se deben tomar en condiciones de esterilidad (en el laboratorio con mecheros de gas y en el campo con mecheros de alcohol o material previamente esterilizado en una olla express)(54).

Evitar la deshidratación de la muestra, enviéndolas en medios de cultivo adecuados. Como el medio de transporte Stuart, caldo nutritivo y tioglicolato (22).

Para estudios de serología (medición de anticuerpos), enviar sueros pasados (esto es con intervalos de 15 días), para un muestreo serológico y ver si hay seroconversión o aumentan los títulos de anticuerpos (54).

Toda muestra remitida al laboratorio de diagnóstico deberá contener una identificación y una historia clínica completa.

El tipo de muestra, cantidad, modo de conservación y envío van a depender del tipo de estudio solicitado.

Las aves de desecho comúnmente llamadas "resolachas" son malos especímenes para el diagnóstico de laboratorio.

Muestreo de aves vivas:

La remisión de aves enfermas que estén vivas al laboratorio es el método más adecuado, para la obtención de resultados confiables, para este caso se requieren de 3 a 5 aves con signos bien manifiestos; 3 con signos incipientes; 3 a 4 aparentemente normales. Estas deberán enviarse en cajas bien ventiladas, con

tamaño adecuado para evitar que se ahoguen. Si el transcurso del viaje es mayor de 10 horas, es conveniente suministrar una fuente de alimento y agua (36, 54, 70).

Histopatología:

El estudio de la histopatología tiene por objeto la observación de lesiones microscópicas en tejidos provocados por el agente.

La conservación pretende:

- 1) Prevenir los cambios celulares autolíticos post-mortem, así como la putrefacción.
- 2) Preservar las estructuras tisulares que se pretenden estudiar.
- 3) Provocar el endurecimiento de los órganos para manejarlos más fácilmente durante los siguientes pasos de su preparación (1, 38).

Tipo de muestra:

Organos que macroscópicamente muestren lesiones y de aquellos que aun cuando no se observe, se sospeche tengan una alteración microscópica.

Condiciones de obtención:

No se necesitan condiciones de esterilidad, el grosor de las muestras sera de 4 milímetros como máximo enviándolas en soluciones fijadoras, preferentemente en frascos de bocha ancha.

Conservación:

Ejemplos de soluciones Fijadoras:

- | | | |
|--------------------------------------|---------|--|
| a) Formalina al 10% | | |
| Formaldehído comercial (37-40%) | 100 ml. | |
| Agua | 900 ml. | |
| b) Formalina bufferada neutra al 10% | | |
| Formaldehído comercial (37-40%) | 100 ml. | |
| Agua destilada | 900 ml. | |
| fosfato de sodio monobásico | 4 gr. | |
| fosfato de sodio dibásico | 6.5 gr. | |

Estas dos soluciones anteriores se recomiendan para uso común, ya que sirven para las coloraciones rutinarias.

Fijador de Bouin:

Solución acuosa saturada de ácido picrico	750 ml.
---	---------

Formalina (37-40%)	200 ml.
Acido acético glacial	50 ml.

Esta solución se utiliza en tejidos delicados y métodos de investigación.

Fijar los bloques de tejido durante 1-12 horas, dependiendo de su tamaño. Lavar con alcohol al 50% durante 4 a 5 horas, para remover el ácido pícrico (20).

La solución de fijador va a ser de una relación de 1:10, el pulmón que flota en el fijador, se recomienda cubrirlo con algodón y no quede flotando para su mejor fijación (14).

Virología:

Se pretende el aislamiento e identificación de agentes virales mediante su replicación en medios biológicos como embriones de pollo, cultivos celulares o aves susceptibles (62).

Tipo de muestra:

Se requiere de exudados y porciones de órganos como pulmón, hígado, bazo, hisopos traqueales y cloacales.

Condiciones de obtención:

Las muestras deben ser frescas y tomadas en condiciones de esterilidad, utilizando mecheros de alcohol o gas, con pinzas y tijeras previamente flameadas.

Conservación:

El mejor método es la refrigeración o la congelación, en frascos bien sellados para evitar contaminación posterior. El método de conservación es incluirlas en glicerina líquida estéril. La conservación con glicerina tiene el inconveniente que dificulta el diagnóstico por el método de inmunofluorescencia (1, 36, 70).

Bacteriología y micología:

Aislamiento e identificación de bacterias y hongos presentes en la muestra (22).

Tipo de muestra:

Órganos como hígado, bazo, pulmón, riñón, corazón, agua, alimento, huevo, embriones, cama, plumón, hisopos de arrastre e hisopos con medio de transporte (Stuart) (22).

Condiciones de obtención:

Aplicar todas las reglas de asepsia posible enviar trozos de tejido o hisopos estériles del órgano afectado, procesando las

muestras durante un lapso no mayor de 24 horas de muerte el ave, utilizando una espátula flameado y cauterizando el órgano a muestrear (20).

Conservación:

Las muestras serán enviadas con refrigerante o hielo común, adicionando sal y aserrín para prolongar su duración (36, 38).

Nunca utilizar soluciones antisépticas (formol, fenol, y alcohol) u otra sustancia química como conservador (54, 70).

Muestras para serología:

Evaluación de las respuestas de las aves a programas de vacunación o detectar la presencia o ausencia de enfermedades virales, bacterianas o parasitarias (38, 70).

Tipo de muestra:

Suero o plasma.

Condiciones de obtención:

Se debe evitar al momento de tomar la muestra la hemólisis o contaminación bacteriana, tomando en cuenta los siguientes puntos, en la extracción de la sangre (38, 70).

- a) Edad y tamaño del ave.
- b) Volumen de sangre requerido.
- c) Destino posterior del ave, si esta se a a sacrificar o va al reingreso de la parvada.

Se recomiendan las siguientes técnicas:

Punción de la vena yugular:

Se toma el ave con la mano izquierda poniendo el cuello del ave entre los dedos índice y medio con el dorso hacia la palma, cerrando los demás dedos y haciendo presión con el dedo pulgar arriba del buche del animal así se expone la vena yugular, quedando la mano derecha para la extracción de la sangre (19).

Punción cardíaca lateral:

Colocar el ave en decúbito lateral derecho, elevar el ala izquierda tomando como referencia el radio longitudinal inferior de la quilla en el nivel de su extremo anterior, se traza una línea en el ángulo recto, así se palpa el latido cardíaco, donde se percibe más fuerte, se inserta la aguja en dirección perpendicular hasta puncionar el músculo cardíaco (19, 62).

Punción cardíaca entre el esternón y metaesternón:

Puncionar el ángulo que forman el esternón y metaesternón,

(proceso post-lateral del esternón). El hueco se puede palpar atrás y arriba de la punta del esternón. La aguja debe dirigirse en dirección anteromedial hasta puncionar el músculo cardíaco (54).

Punción de la vena braquial:

Se coloca el ave en decúbito lateral sujetando ambas alas con la mano izquierda, para exponer la superficie ventral de la región del ala. La vena se encuentra a lo largo de la depresión entre los músculos biceps braquial y triceps humeral. Ya localizada la vena y con aguja del calibre 20-21, se inserta en dirección contraria del flujo sanguíneo (54).

Sangrado por decapitación:

Este método se describe en el apartado de necropsias.

Para la obtención de pequeñas cantidades de sangre, se recomienda la punción de la cresta en pollitos, y el corte de la primera falange, para cuando se necesita hacer frotis o pruebas rápidas de aglutinación con sangre fresca para pulorosis y tifoidea (36).

La sangre se puede vaciar en frascos viales esterilizados, colocándose en posición horizontal. En lugar de viales se pueden utilizar popotes sellados con calor, se debe vigilar que el sellado sea perfecto para evitar perder la muestra. Esta técnica consiste en sellar el popote por un extremo, al vaciar la sangre se deja coagular por espacio de 3 a 4 horas a temperatura ambiente, ya separado el suero se extrae el coágulo del popote y se sella el extremo faltante (36, 70).

Absorción en papel filtro:

Otra técnica para la recolección de sangre es mediante la absorción en papel filtro. Las ventajas que ofrece este método con respecto a la obtención del suero es la facilidad de obtención, menor contaminación bacteriana, economía y facilidad de transporte. Esto permite al dueño de la granja o al casetero obtener muestras más fácilmente (57).

Para la obtención en este método, se punciona la vena braquial con aguja hipodérmica, con un extremo del papel filtro se absorbe la sangre, permitiendo la saturación de 4 centímetros de la tira. Se deja secar a temperatura ambiente, no debe pasar más de 35 días para que sea remitida al laboratorio (57).

Cada mililitro de sangre obtenida, proporciona de 0.3 a 0.4 milímetros de suero.

Cantidad de suero requerido para algunas pruebas serológicas:

Inhibición de la hemaglutinación	0.05 ml.
Precipitación en gel de agar	0.05 ml.

Aglutinación en placa	0.15 ml.
Virus suero neutralización en cultivo celular	0.05 ml.

Muestras parasitológicas:

Detección de la presencia de ooquistes de protozoarios o huevos de helmintos y ectoparásitos (70).

Tipo de muestra:

Para endoparásitos heces, intestino o cama. Para ectoparásitos raspados profundos de piel y especímenes recolectados.

Condiciones de obtención:

En animales vivos o durante la necropsia.

Conservación:

En raspados profundos en muestras de piel se humedece con solución salina fisiológica o aceite mineral, enviándose en frotis o portaobjetos.

Los endoparásitos recolectados se envían en solución salina fisiológica, en formol al 10% o alcohol al 70%.

En caso de mandar heces para el estudio de coccidiosis, se pueden conservar en dicromato de potasio al 2.5% (53).

Hematología:

Observación de la morfología normal o anomalías de las células sanguíneas.

Tipo de muestra:

Sangre completa:

Condiciones de obtención:

Similares a las del suero.

Conservación:

Mezclar 0.02 mililitros de EDTA líquido por 2 mililitros de sangre, posteriormente se refrigera no más de 6 horas, para que no haya alteración morfológica de las células sanguíneas (65).

Muestras para toxicología:

Determinación de agentes tóxicos (químicos, micotoxinas, gases) presentes en las muestras colectadas (49).

Tipo de muestra:

Aves vivas, órganos, agua, alimento (terminado e ingredientes), cama, contenido gastrointestinal, suero, sangre, raspado de paredes de las casetas, áreas recién pintadas o descapadas, tierra y fragmentos de piso roto (49).

Condiciones de obtención:

Estas deberán obtenerse exentas de contaminación y residuos químicos, no serán lavadas para evitar la posibilidad de arrastrar residuos del agente químico o de contaminación con el agua. (49).

Conservación:

Las muestras de tejido serán congeladas y envasadas de manera que así lleguen al laboratorio. El suero y sangre se mantendrán refrigeradas. Las muestras de órganos diferentes se envían por separado (46).

TECNICA DE NECROPSIAS EN AVES

La necropsia es la disección anatómica, rápida, ordenada y sistemática de un cadáver, con el fin de detectar lesiones en los órganos o tejidos y así poder establecer una posible causa de la enfermedad o del problema en las aves (29).

GENERALIDADES

Se permitirá sólo el acceso a la sala de necropsias al personal que trabajará el caso.

El personal participante deberá de trabajar con bata, mandil y guantes en la sala de necropsias.

Antes de la realización de la necropsia, el prosector deberá leer y analizar la historia clínica.

Toda observación a la necropsia deberá ser registrada en el protocolo de necropsia, con el fin de relacionarlo con la historia clínica correspondiente.

Al llevarse a cabo la necropsia en el campo, el clínico deberá de tomar en cuenta los siguientes puntos.

Escoger en la granja un lugar, alejado del tránsito de personas, animales o vehiculos de preferencia con piso de cemento.

El lugar donde se va a realizar la necropsia es recomendable, cubrirlo con costales o cama de papel desechable para facilitar la eliminación del cadáver.

Disponer de una fuente de agua. si no es así, acarrearla hacia un abastecimiento provisional.

Tener a la mano un recipiente con desinfectante para el material.

Utilizar la ropa adecuada, como overol, botas y guantes (1)

MÉTODOS DE SACRIFICIO

Si el ave es remitida viva al laboratorio, es necesario aplicar un método de sacrificio. En aves existen los siguientes:

Desnucamiento: En este método existen 3 variedades.

a) Dislocación de la articulación atlanto occipital: Este método consiste en tomar las dos alas del ave con una mano y la cabeza con la otra, de modo tal que jalando se pueda dislocar la

articulación atlanto occipital, se aplica en aves menores de 10 semanas, en aves grandes es difícil, produce hematoma cervical y entorpece el estudio de la evaluación de la vacuna subcutánea en cuello o lesiones en tráquea por laringotraqueitis, dificulta la detección de secreciones en laringe y tráquea (53).

b) Desnucamiento con pinzas de burdizzo: En esta técnica el ayudante sujeta al ave de las patas y las alas, mientras que el otro coloca las pinzas de burdizzo detrás de la nuca del ave, cerrandolas enérgicamente. La ventaja de este método es que se puede utilizar en animales grandes como son pavos, reproductoras y gallos. El inconveniente de este es que se necesitan dos personas, además que como la técnica anterior, provoca cambios morfológicos en la nuca del animal (53).

c) Desnucamiento con tijeras: Aquí se toma el ave por el dorso con la mano izquierda, dejando libre la cabeza y cuello libres, con el extremo no cortante de las tijeras se presiona la articulación atlanto occipital, provocando la desarticulación de los huesos del cuello. También se puede colocar el cuello del ave en un borde afilado de una mesa y ejercer presión con el dedo pulgar para provocar la desarticulación. Este método se aplica en aves menores de 3 semanas (53).

Decapitación.

Consiste en cortar el cuello al ave con unas tijeras. Esto debe efectuarse rápidamente para evitar el sufrimiento del animal. Este método se utiliza en aves recién nacidas o menores de 2 semanas (53).

Electrocusión:

Con un cable de electricidad, se coloca un polo en el pico y otro en la cloaca, conectandola a una fuente de corriente eléctrica. Este método es el más utilizado en el laboratorio de diagnóstico avícola. Las precauciones que se deben de tomar en este método son las siguientes, evitar descargas eléctricas a la persona que este sujetando al ave, no estando cerca de superficies metálicas o de agua (53)

Embolo gaseoso:

Con una jeringa de plástico desechable y aguja del No. 18, introduciendo 1 1/2 pulgada directamente en el corazón del ave a través del esternón, se inyectan de 10-25 cc. de aire. Existe el inconveniente de que causa congestión y contaminación bacteriana hacia los órganos (9).

Inyección de sustancias:

Consiste en introducir un anestésico fijo por vía endovenosa (vena braquial) o intracardiaca. Estos pueden ser:

Pentotal sódico.

Pentobarbital.
Hidrato de cloral.
Sulfato de magnesio.

Esto sólo se hace en investigación. Su desventaja es que produce congestión visceral.

Inhalación de gases:

Este método consiste en colocar al ave en un ambiente lleno de gases como el eter, cloroformo o bioxido de carbono. Su desventaja es que produce congestión visceral (54).

MATERIAL DE NECROPSIA.

Pinzas y tijeras de disección.
Costotomo y pinzas corta hueso.
Espátulas bacteriológica
Soluciones desinfectantes.
Solución jabonosa.
Soluciones fijadoras de tejidos (formalina amortiguada al 10%).
Jeringas con agujas del no. 20, 21 y 22 estériles.
Tubos de centrifuga estériles.
Asas bacteriológicas e hisopos estériles.
Cajas de petri con medios de cultivo enriquecidos y selectivos (Agar sangre y McConkey)
Tubos con medios de transporte Stuart y Caldo selenite.
Mecheros de gas
Papel desechable o periódico.

PREPARACION DEL AVE

Ya sacrificada el ave, sumergirla en agua jabonosa, para evitar que se dispersen las plumas. Se debe tener precaución de no sumergir la cabeza, ya que puede penetrar agua por el pico, lo que puede entorpecer la observación de las vías respiratorias altas y parte anterior del tracto digestivo. Esto se hace también para que las plumas no caigan en la mesa de necropsias y suelo, eliminar el exceso de suciedad en el cadáver, evitar que las plumas interfieran en los cortes y la visibilidad de algunas estructuras, y así evitar la contaminación de tejidos con el contacto de las plumas (19, 43).

Si se sospecha de alguna enfermedad infecto-contagiosa, como la psittacosis se recomienda sumergir al ave en una solución de cresol comúnmente conocido como lisol al 5 % (1, 19).

Cubrir el área de trabajo con papel desechable o periódico mojado con la solución jabonosa sobrante, esto con el fin de que al terminar la necropsia, se haga más fácil la limpieza y desinfección de la mesa de trabajo (42).

Técnica:

Se coloca al ave en decúbito dorsal, con las patas orientadas hacia el prosector.

Hacer la inspección externa del cadáver dorso ventral y antero posterior, revisando el estado de pigmentación, piel faneras y mucosas para la detección de tumores, abscesos, abrasiones, condiciones del pico, evidencias de canibalismo, costras, diarrea, descargas nasales y respiratorias, exudado conjuntival, deshidratación, estado de plumaje o deformaciones (19).

La incisión primaria se realiza en la línea media del pico, pasando por el esternon, hasta la cloaca, por medio de tracción firme se separa la piel del cuello pechuga y abdomen.

Tomando las piernas del ave se ejerce tracción dorsalmente para desarticular las piernas.

La incisión secundaria se efectúa en la parte posterior del esternon haciendo un corte lateralmente, pasando por las articulaciones costocondrales de ambos lados, hasta llegar a la articulación acrococlavicular (7), conocida como articulación de la clavícula se procede a su desarticulación utilizando el costotomo (9).

Se levanta cuidadosamente la pechuga, revisando los sacos aéreos y las estructuras en su sitio, tomando en cuenta las siguientes características:

Relación con otros órganos

Tamaño

Forma

Color

Consistencia

Superficie de corte

Contenido de fluidos en cavidades

Una vez expuestos los órganos como son corazón, hígado, pulmón, y bazo se pueden tomar muestras para bacteriología, flameando el área a muestrear con una espátula e introduciendo un hisopo estéril girándolo sobre su propio eje. Posteriormente se coloca una estria en el medio de cultivo o dentro del tubo con medio líquido. Para coleccionar porciones de órganos para aislamiento viral o bacteriano, cortar con pinzas y tijeras estériles y colocar la muestra en cajas o frascos estériles (53).

Exploración por aparatos y sistemas.

Aparato respiratorio.

Se efectúa un corte transversal en el pico con tijeras estériles, revisando cornetes y meatos respiratorios. En el caso de que se desee intentar aislamiento bacteriano de esta zona, se

flamea totalmente la cabeza del ave, se incide con tijeras flameadas y se introduce un asa o hisopo estéril, si existe la presencia de exudado, no tomar la muestra para Haemophilus (54).

Enseguida se hace un corte en la comisura izquierda del pico hasta la entrada del torax y por medio de un corte longitudinal se expone la mucosa traqueal inspeccionando su mucosa y contenido, en caso de influenza aviar o newcastle se observan hemorragias, en laringotraqueitis infecciosa hay congestión y pseudomembranas, en viruela húmeda hay pústulas (19).

La extracción de los pulmones se realiza mediante disección roma, cortando el mediastino que une la tráquea y el esófago. Se continua el corte transversal desde la tráquea hasta los bronquios. Posteriormente se hacen cortes transversales en el parénquima del pulmón para observar la superficie de corte, en caso de aspergilosis se puede encontrar nódulos amarillentos (19, 29).

Aparato digestivo:

En la cavidad oral se puede encontrar úlceras ocasionadas por tricocenos (micotoxinas). Se realiza un corte longitudinal iniciando desde el esófago hasta el intestino grueso revisando su mucosa y contenido, pudiendo encontrar lesiones en los siguientes órganos:

Esófago y buche, se inciden longitudinalmente, el buche por su curvatura mayor revisando su mucosa y contenido pudiéndose encontrar placas blanquecinas ocasionadas por candidiasis y tricomoniasis (19, 26).

Proventrículo, se podrían observar hemorragias como es el caso de la enfermedad de Newcastle o Influenza aviar.

Intestino, Aquí se pueden observar hemorragias causadas por Coccidiosis o micotoxinas.

En hígado se observan cambios de coloración, aumento de tamaño (bordes redondeados), se realizan cortes transversales para revisar el parénquima. En Hepatitis con cuerpos de inclusión el hígado se encuentra aumentado de tamaño, con pequeños puntilleos blancos, que pueden ser observados también en la enfermedad de salmonelosis.

La revisión del páncreas se hace por medio de cortes transversales inspeccionando color y textura del órgano. En el caso de Síndrome de mala absorción hay atrofia del páncreas observándose retraído el duodeno o podemos encontrar pancreatitis (14)

Aparato Genito-urinario:

Los riñones se revisan en su sitio determinando su volumen y color o extrayéndolos de su fosa para revisar su parénquima en la

enfermedad de bronquitis infecciosa, se pueden encontrar uratos que confieren una tonalidad blanquecina o hemorragias. Las glándulas adrenales se localizan cerca del polo anterior de los riñones, procediendo a su revisión (14, 19).

En las hembras se evalúa el ovario izquierdo tomando en cuenta su actividad o reposo de los folículos, podemos encontrar hemorragias en la enfermedad de salmonelosis o enfermedad de Newcastle (14, 19).

En machos se revisa la simetría de los testículos que deben de estar adheridos dorsoventralmente a los lóbulos anteriores de los riñones. En la administración de nitrofuranos en exceso causa atrofia testicular (42).

Sistema linfoide:

Se extrae el bazo de la cavidad abdominal, localizado justo debajo del proventrículo, se examina su forma y apariencia externa, cortando longitudinalmente, revisando su superficie. Existe esplenomegalia en caso de infección de la bolsa de fabricio, leucosis y enfermedad de Newcastle (42).

Cuando se realiza la incisión primaria en piel, en la parte izquierda del cuello, se desprende y se revisa el timo, que se compone por 14 lóbulos localizados en 2 cadenas laterales paralelas, revisando su color, tamaño y por medio de cortes transversales revisar su apariencia interna (42).

Las tonsilas cecales se revisan haciendo un corte longitudinal en dirección contraria de cada uno de los ciegos, comenzando por la unión cecolítica, para exponer la mucosa cecal y revisar el aspecto de las tonsilas cecales (19, 42).

La bolsa de fabricio se separa de la cavidad pélvica mediante disección roma, revisando su tamaño, por medio de cortes se inspecciona su contenido y pliegues de la mucosa, en enfermedad de Marek e infección de la bolsa de fabricio se observa atrofia (19, 26).

Otra forma de revisar la bolsa de fabricio es realizar un corte de la piel a la altura de las vértebras caudales libres, para desarticularlas, se ejerce tracción hacia los lados y se expone el órgano.

Glándula de Harder o glándula de la membrana nictitante, esta se localiza dentro de la órbita, rostrodorsal al globo ocular, vierte su secreción a un ducto dentro del saco conjuntival entre el globo ocular y la membrana nictitante (7).

Sistema nervioso:

Para la extracción del encefalo, se procede a cortar y separar la piel de la cabeza. Se introduce la punta aguda de la

tijera para realizar dos cortes sobre los huesos parietales hasta llegar a las cuencas orbitarias, se hace un tercer corte sobre el hueso frontal que una a los cortes anteriores. Se separa la porción de hueso seccionado cortando la duramadre, se extrae el encéfalo haciendo un corte sobre su base (1).

Se inspecciona el plexo braquial, localizado en la parte anterior del torax, a la altura de los miembros torácicos.

Se revisa el nervio Remak, localizado en el mesenterio, paralelo al recto.

Para la revisión del nervio isquiático, hay que separar los músculos gracilis y aductor magno, el nervio isquiático se localiza debajo del músculo aductor magno, sobre el músculo semitendinoso (19, 14).

Sistema músculo esquelético:

Al desarticular las piernas se revisa la articulación coxofemoral, inspeccionando el cartilago, observando si hay o no desprendimiento o fractura de la cabeza del femur, dado que puede existir agentes como reovirus que afectan estas áreas.

Para revisar la medula ósea, se separa un muslo y se procede a la disección de los músculos de la pierna, hasta dejarlo descubierto, el femur se corta observando su apariencia. Esto es útil para realizar estudios bacteriológicos en caso de aves medicadas, tomando una muestra con un hisopo estéril o asa previamente flameada sembrándolo en medio de cultivo.

Aparato circulatorio:

El corazón se revisa externa e internamente, junto con el saco pericárdico. Las venas cavas y las pulmonares se revisan detalladamente. En corazón podemos encontrar alteraciones de forma y tamaño, como en ascitis, engrosamiento del ventrículo derecho, junto con líquido acumulado en el saco pericárdico como ocurre en el Síndrome del hidropericardio o hepatitis con cuerpos de inclusión (19, 42).

DESCRIPCION MACROSCOPICA DE LESIONES

El médico veterinario debe tener una idea clara acerca de la apariencia "normal" de los órganos de un ave, para así poder detectar cualquier anomalía presente al realizar una necropsia (1, 29).

Para la descripción de lesiones se tomará en cuenta los siguientes criterios:

1) Objetividad: El prosector debe describir lo que realmente observa y no lo que espera encontrar.

2) Anotar la interpretación acerca de lo encontrado.

3) La descripción debe de darle una idea clara acerca de las lesiones a cualquier persona que no presencié la necropsia.

4) Se inicia describiendo lo general, lo que es común en varios órganos o se extiende a todo un órgano, como por ejemplo:

"En la enfermedad crónica respiratoria, se observa una masa de color amarillento adherido en órganos como son hígado, corazón y pulmón."

5) Si en un órgano no se encontrara lesiones se debe de anotar "sin cambios patológicos aparentes" o las siglas "S.C.P.A."

6) El prosector deberá tener conocimientos precisos de anatomía para indicar la localización exacta de las lesiones.

7) Es recomendable incluir esquemas referentes a la descripción de las lesiones.

Terminología adecuada para la descripción de lesiones:

Se basa en las siguientes especificaciones:

- | | |
|-----------------------|------------------------------|
| a) Localización. | g) Consistencia |
| b) Relación. | h) Olor. |
| c) Número y extensión | i) Superficie de corte. |
| d) Tamaño y peso | j) Contenido. |
| e) Forma | k) Luz de órganos tubulares. |
| f) Color | |

Localización: Se basa sobre la terminología usada en anatomía.

Relación: Describe las relaciones establecidas en caso de desplazamiento, malposiciones congénitas de órganos o de relaciones que tiene una estructura normal (absceso, neoplasia) con órganos vecinos (20).

Número y extensión: Se puede estimar en cantidades como 5, 6, una docena varias docenas, 100 etc., no debiendo usar términos como "muchos, pocos o varios"

Tamaño y peso: Se utiliza el sistema métrico (cm, mm o m), en peso (grs., kg.). Además se indica la proporción en porcentaje de los cambios de tamaño, además de describir las características morfológicas del órgano.

Forma: Se utilizan términos como: redondeado, ovalado, estrellado, nodular, forma de frijol, tortuoso, irregular, crateriforme.

Color: Se utilizan colores comunes, rojo, amarillo etc. También pueden utilizarse combinaciones, rojo-negruzco, verde amarillento, etc. Determinando tonalidad y transparencia claro, opaco, intenso, turbio etc.

Consistencia: Se utilizan términos como: acuoso, mucoso, duro, friable, crepitante, etc.

Olor: Se utilizan términos como: Acido, fétido, dulzón etc.

Superficie de corte: Se utilizan términos como: ulcerado, liso, irregular, deprimido, elevado etc.

Contenido: Se describe en base a: localización, cantidad (volumen, ml, lts.), consistencia, color, olor, si coagula con el aire, presencia de burbujas y materiales en suspensión.

Luz de órganos tubulares: Se describe la superficie mucosa de dichos órganos y su posible contenido en él.

EXAMEN CLINICO

La importancia del examen clínico radica en la detección de signos presentes en las aves, se debe identificar los problemas más importantes de la parvada, no sólo poner atención a los problemas individuales de ciertos individuos (14).

Mediante la exploración metódica y sistemática de la parvada se emitirá un diagnóstico clínico presuntivo y pronóstico; con base en esto puede recomendarse un tratamiento, indicando las medidas de control y profilaxis necesarios (37, 50).

El examen clínico consta de las siguientes partes:

- a) Inspección de las instalaciones y equipo.
- b) Inspección de la parvada.
- c) Inspección clínica individual.

Inspección de las instalaciones y equipo:

- 1) Inspeccionar que grado de aislamiento hay de la granja (40).
- 2) Inspeccionar el equipo que sea el adecuado, en cantidad suficiente, revisando que esté en perfecto funcionamiento (55).
- 3) Inspeccionar que las condiciones del pollo sean las adecuadas de temperatura y ventilación sin exceso de humedad, sin acúmulo de gases como el amoníaco y bióxido de carbono, material de cama absorbente, excelente alimentación, disposición de agua limpia y fresca, revisión de calendario de vacunación (46, 55).
- 4) Saber el de manejo que se tiene dentro de la granja y evitar errores de este tipo como son mal despicado, privación de alimento y agua, enfriamiento de los pollos, heridas por manejo rudo, fallas eléctricas, canibalismo, sofocamiento, sobrepoblación, alimento de baja calidad, así como el ataque de depredadores, ya que esto provoca tensión en las aves (14, 34).

Inspección de la parvada:

La inspección de la parvada debe hacerse a distancia, se entra a la caseta y se camina junto a las paredes, observando su comportamiento y actitud en conjunto, y así detectar si están tristes, alertas, despiertas o como se distribuyen estas en la caseta, si están amontonadas puede significar que tienen frío, o si se encuentran en las orillas puede ser que tengan calor. Una distribución uniforme significa un buen estado (55).

Para detectar problemas respiratorios, se hace que la parvada guarde silencio momentáneamente, haciendo ruido o aplaudiendo dentro de la caseta, así se escucharán los estornudos de las aves, estertores traqueales (61).

Examen clínico individual.

Las aves deben de ser cuidadosamente examinadas, para detectar lesiones físicamente visibles, como son las causadas por traumatismos, tumores y ectoparásitos. Hay que tomar en cuenta el estado del plumaje, peso y apariencia general del ave (14, 62).

El examen es directo y sistemático, en el siguiente orden:

- 1) Estado general del ave.
- 2) Examen del sistema tegumentario
- 3) Examen del sistema respiratorio
- 4) Examen del sistema digestivo
- 5) Examen del sistema locomotor
- 6) Examen del sistema nervioso
- 7) Examen del ojo.

Estado general del ave:

Registrar el peso, tamaño y uniformidad de las aves, revisando condición de la cresta, barbillas, tejido facial, ojos, ruidos respiratorios anormales, disnea, exudado nasal, lagrimeo, sinusitis, deshidratación y cianosis de la piel, además de la pigmentación de pico y patas (62).

Examen del sistema tegumentario:

A la revisión de las plumas deben de estar limpias, pegadas al cuerpo y con brillo (29).

Las plumas se pueden encontrar ectoparásitos como son Goniodotes gallinae, Goniodes gigas, Livepus caponis, Dermanyssus gallinae.

Dermanyssus gallinae, puede provocar anemias mortales, sobre todo en épocas de calor (29)

Los ácaros se pueden observar como granos de arena gris/negruzco, sobre todo en la parte inferior de las alas y en el pliegue de éstas.

La piel debere tener una coloración amarillenta, por los pigmentos (en gallinas de postura dependiendo del ciclo en que se encuentren esto variará) (55).

En las partes desprovistas de plumas, cresta, barbillas y cara pueden encontrarse costras o nódulos de color gris, ocasionados por el virus de la viruela aviar (42, 63).

A la palpación en el ave pueden encontrarse nodulaciones bien delimitadas debajo de la piel que son causadas por leucosis aviar o enfermedad de marek (62, 42).

Examen del sistema respiratorio:

El sistema respiratorio se comienza a revisar desde el pico,

se efectúa con presionar la base del pico y consiste en la observación de exudados, su color, consistencia, olor (29).

La laringe y tráquea se inspeccionan abriendo el pico y por medio de transluminación e introduciendo un hisopo con precaución de no dañar al ave se pueden observar parásitos como Syngamus trachea, o ver el grado de congestión del órgano (53, 54).

El tipo de respiración normal de las aves es toraco-abdominal, la respiración anormal es el jadeo, disnea o el boqueo.

Por medio de auscultación, acercando el ave al oído se pueden detectar ruidos respiratorios como son estertores, estornudos, tos.

Examen del sistema digestivo:

En la mucosa de la cavidad oral como en la lengua se pueden encontrar úlceras debido a tricocenos.

Alrededor de la cloaca podemos encontrar plumas pegadas y sucias que son indicativas de diarreas.

El buche lo podemos inspeccionar por palpación, en donde podemos encontrar impactación o dilatación por alimento o encontrar lesiones de vómito negro.

Examen de las heces, esto es complemento de la exploración clínica y consiste en la observación de las heces, considerando su color consistencia, grado de digestión en particular sin digerir o semidigeridas. Se observan tanto macroscópicamente como microscópicamente (estudio coproparasicoscópico) (21).

Examen del sistema locomotor:

Las deformidades, claudicaciones, fracturas y contusiones son importantes y deben de ser investigadas antes de sacrificar al ave, ya que muchas deformidades obedecen a predisposición genética mientras que otras como la parálisis de dedos enroscados, perosis (desprendimiento del tendón gastrocnemio) y gota son más probables a una nutrición inadecuada (62).

Para revisar el reflejo anquiliano, tomar al ave de las base del alas con la mano izquierda, y con la mano derecha golpear suavemente la parte superior y posterior de la articulación tibiotarsiana, el ave respondera flexionando la extremidad (53).

Se revisa el desplazamiento, haciendo que el ave camine observando si hay resistencia a caminar o cojeras, ya que en la enfermedad de artritis viral hay claudicación por la inflamación de la articulación tibiotarsometarsiana (53).

Examen del sistema nervioso.

Actitud o postura, es la impresión o posición anatómica en la que se encuentra el ave, en estática o en dinámica (50).

Una mala postura son pollos con torticollis, opistotonos, bradistotonos debido a la enfermedad de newcastle.

Comportamiento, es la impresión sensoriomotora del paciente, abarcando su forma fisiológica o patológica de reaccionar, en sus distintas manifestaciones vitales, podemos detectar problemas de posición e incoordinación.

Para determinar la coordinación, se sujeta al ave de las plumas de la cola, dejandola apenas tocar la superficie del suelo, un ave con buena coordinación movera las patas como si tratara de correr.

Para revisar el reflejo anquiliano, tomar con la mano izquierda al ave por la base de las alas, y con la otra mano golpear suavemente la parte superior y posterior de la articulación tibiotarsiana, el ave flexionará la extremidad.

Al revisar el reflejo pedal, se tomará el ave como se indico anteriormente, pero con la mano libre se pondra el dedo indice debao del ave. Un ave en buen estado sujetara el dedo, lo que no hara una enferma (53).

Examen del ojo.

La revisión del globo ocular y los párpados nos da indicio de enfermedades. El acúmulo de exudados en el ángulo ocular (nasal) hace pensar en un problema respiratorio de las vías altas. Sin mucha importancia están las lesiones palpebrales, que se presentan en gallos por motivos de pelea.

La revisión del globo ocular es importante el iris, normalmente esta claramente dibujado y sin desviación (esto varia con la raza, la edad y el tipo de alimento). Una asimetría en el color y aspecto se sospecha de parálisis por enfermedad de Marek (21).

BACTERIOLOGIA GENERAL:

Fundamento:

Aislamiento e identificación bacteriana "in vitro", mediante su crecimiento en medios de cultivo y su afinidad tintorial (Gram) de los microorganismos para determinar su morfología y propiedades hemolíticas o bioquímicas (22, 48).

MEDIOS DE CULTIVO BASICOS.

Estos contienen en general los nutrientes esenciales para promover el desarrollo de microorganismos, poco exigentes nutricionalmente. Ejem. caldo nutritivo, caldo tioglicolato, caldo triptosa y agar tripticasa soya (22).

MEDIOS ENRIQUECIDOS.

Estos medios han sido suplementados con otros nutrientes que proporcionan "factores de crecimiento" cuyo fin es promover el desarrollo de microorganismos más exigentes. Ejem. Agar sangre, agar chocolate, en general todos aquellos medios adicionados con plasma, líquido ascítico, vitaminas y aminoácidos (22).

MEDIOS DE ENRIQUECIMIENTO.

Estos medios son para aumentar la propagación de ciertos microorganismos sin favorecer a otros. Estos medios son los preferidos para el aislamiento de Salmonella a partir de heces. Ejem. Caldo selenito de sodio, caldo selenito y cistina, caldo tetratolato, caldo-sal-colistina, agar sangre más levadura de cerveza, agar yema de huevo más leche (22).

MEDIOS SELECTIVOS.

A estos medios se les adiciona sustancias inhibidoras de la propagación de un grupo de bacterias, pero permiten en cambio el crecimiento de otros grupos. Ejem. verde brillante ayuda al crecimiento de Salmonella y Campylobacter; Acetato de talio ayuda al crecimiento de PPLD y Streptococcus (22).

MEDIOS DIFERENCIALES.

Debido a los componentes químicos e indicadores que contienen permiten identificar con cierta facilidad algunos generos o especies de bacterias por el aspecto característico que toman sus colonias. Ejem. Salmonella-Shigella, agar de sal y manitol, eosina-azul de metileno (22).

MEDIOS DE TRANSPORTE.

Estos medios permiten a los microorganismos conservarse viables hasta llegar al laboratorio. Ejem. medio de transporte Stuart, caldo tioglicolato, caldo nutritivo y medio Carry-Blair (22).

Analisis bacteriológico de órganos:

La toma de órganos y tejidos se realiza durante la necropsia (Ver apartado de necropsias). En el caso de pollitos los órganos como bazo, son recolectados en una espátula y macerados con la ayuda de otra espátula previamente flameados (8).

Se procede a sembrar por estrias en medios de enriquecimiento y selectivos. Se incuba 24 a 48 hrs. a 37 C.

Se toman colonias sospechosas, hacer tinción de Gram y se siembran en medios de enriquecimiento, selectivos y diferenciales. Se incuban 24-48 hrs a 37 C (22).

Se realizan pruebas bioquímicas.

TSI (Triple Sugar-Iron).

Determina la capacidad de un organismo de atacar un hidrato de carbono específico incorporado en un medio de crecimiento básico, con producción o no de gas, junto con la determinación de posible producción de ácido sulfídrico (H₂S) (22).

Reacción de la Ureasa.

Determina la capacidad de un organismo para desdoblar la úrea, formando 2 moléculas de amoníaco por acción de la enzima ureasa.

S.I.M.

Se utiliza para realizar 3 pruebas a la vez, que son leídas y reportadas por separado, es de uso de rutina en la diferenciación de cultivos puros de enterobacterias y que detecta la producción de Sulfuros, Indol y Motilidad.

Citrato.

Determina si un organismo es capaz de utilizar el citrato como única fuente de carbono para su metabolismo, provocando alcalinidad en el medio.

LIA (Lisina Hierro Agar)

Es un medio diferencial empleado para caracterizar las enterobacterias. Es útil para diferenciar cepas de Salmonella y Arizona de Citrobacter. Es un medio sólido en tubo de superficie inclinado de color púrpura, que contiene lisina (1%), glucosa, indicador de ácido sulfídrico y púrpura de bromocresol como indicador de pH.

Rojo de metilo - Voges Proskauer (MR-VP)

Rojo de metilo, comprueba la capacidad de un organismo de producir y mantener estables los productos terminales ácidos de

la fermentación de la glucosa.

Voges Proskauer, determina la capacidad de algunos organismos de producir un compuesto final neutro, el acetil metil carbinol (acetoina) a partir de la fermentación de la glucosa.

Reducción del nitrato.

Determina la capacidad de un organismo de producir enzimas que reduzcan el nitrato en nitritos o en nitrógeno libre.

Descarboxilación de la Lisina.

Mide la capacidad enzimática de un organismo para descarboxilar un aminoácido formando una amina, con la consiguiente alcalinidad.

Coagulasa.

Comprueba la facultad de un organismo de coagular el plasma por acción de la enzima coagulasa. La prueba de coagulasa se utiliza de manera específica en la diferenciación de especies pertenecientes al género *Staphylococcus*, *Stph. aureus* (+) de *Stph. epidermidis* (-). Una reacción positiva a la coagulasa es de criterio diagnóstico final para la identificación de *Staphylococcus*.

Acido de la glucosa.

Determina la capacidad de un organismo de fermentar (degradar) un hidrato de carbono específico (glucosa) incorporado a un medio básico produciendo ácido o ácido con gas visible.

Leche tornasol.

Diferencia los organismos sobre la base de sus múltiples reacciones metabólicas en un medio lácteo (22).

Malonato.

Determina la capacidad de un organismo de utilizar el malonato de sodio como única fuente de carbono, con la consiguiente alcalinidad del medio.

Catalasa.

Comprueba la presencia de la catalasa, el cual es una enzima que desdobla el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno libre.

Motilidad.

Determina si un microorganismos es móvil o inmóvil.

Oxidasa.

Determina la presencia de las enzimas oxidasas.

Oxido-fermentación.

Determina si los microorganismos atacan a un carbohidrato por oxidación o fermentación, la prueba se realiza dejando crecer la bacteria en 2 tubos con el medio de Hugh y Leifson.

Fermentación de la glucosa solamente (Alcalina-ácida)

La fermentación de la glucosa sólo queda indicada por la formación de ácido (amarillo) en el fondo del medio, sin gas o con el, mientras que la superficie permanece alcalina (roja).

Fermentación de la lactosa y la glucosa.

La fermentación de la lactosa se demuestra por el desarrollo de ácido y gas tanto en la superficie como dentro de la capa de agar (amarillo-amarillo).

No fermentación de la lactosa ni de glucosa.
(alcalina/alcalina; alcalina/sin cambio).

Algunas bacterias son incapaces de fermentar la glucosa o la lactosa. Como no fermentan los carbohidratos para su metabolismo, utilizan las peptonas de forma aerobica o anaerobica, dando 2 posibles lecturas con el medio de TSI. La reacción alcalina/alcalina da cuando las peptonas son utilizadas tanto en forma anaerobica como aerobica. La reacción alcalina/sin cambio, se presenta en algunas aerobicas (22).

Análisis bacteriológico de alimento:

Tomar muestras en forma aleatoria de alimento (mínimo 50 grs.). Con una espátula flameada se toma 1 gr. de la muestra, colocandola en tubos identificados que contengan 5 ml. de caldo nutritivo. En caso de Salmonella se realiza el cultivo en caldo tetrionato o selenito. Se incuba de 24-48 hrs a 37 C.

Se siembra una asada con medios de enriquecimiento y selectivos, se incuban las cajas.

Se realiza cultivo puro y pruebas bioquímicas de las colonias aisladas (8).

Muestreo de Ambiente:

Esta prueba es cualitativa, determina el tipo de microorganismo presente en el medio ambiente (aire), las cuales tienden a subir y bajar de acuerdo a las corrientes, al igual que otras partículas que se encuentran en suspensión.

Cuenta total de Estafilococos

más de 50,000 huevo sucio
menos de 50,000 huevo limpio

Análisis bacteriológico cuantitativo de plumón:

La toma de muestras se realiza por medio de abatelenguas estériles a partir de los cúmulos de plumón en las charolas, carros, paredes, pisos, puertas. Estas se depositan en recipientes estériles (bolsas o frascos) (8).

Técnica de Gentry:

Parámetros para la evaluación del contenido de hongos y bacterias, expresada en unidades formadoras de colonia por gramo (ufc/gramo) (23).

Cuenta total de bacterias:

50,000 o más muy contaminado.
25,000 a 50,000 moderadamente contaminado.
0 a 25,000 bajo o no contaminado.

Cuenta total de coliformes

5,000 o más muy contaminado
0 a 5,000 bajo o no contaminado

Cuenta total de Estafilococos

5,000 o más muy contaminado
0 a 5,000 bajo o no contaminado

Si los estafilococos presentan un halo amarillento alrededor de las colonias en agar de sal o manitol, se considera patógenas.

ANTIBIOGRAMA

A menudo la guía más importante para seleccionar una terapia antimicrobiana adecuada, es el aislamiento e identificación del microorganismo, muchas bacterias son de susceptibilidad predecible a la respuesta de drogas antimicrobianas, también existen otros grupos de organismos no predecibles en su respuesta, por lo tanto en algunos casos es necesario realizar pruebas de susceptibilidad a los agentes antimicrobianos "in vitro", esto es un antibiograma (22, 39).

La prueba de susceptibilidad más utilizada en los laboratorios de diagnósticos del país, es la que a continuación se describe-(35):

1) Se preparan las cajas de petri con el medio de Mueller-Hinton, para uso con el método de "Bauer-Kirby".

2) Preparación del inóculo:

a) Realizar una tinción de Gram antes de la prueba de susceptibilidad.

b) Seleccionar 3 a 4 colonias similares y transferirlas a un caldo BBL Tryptocase Soya.

c) Incubar a 35 C por 2 a 8 horas.

d) Diluir con agua estéril o caldo estéril para obtener una turbidez adecuada.

3) Inoculación en el medio de Mueller-Hinton:

a) Sumérjase una torunda dentro del inóculo.

b) Rayar la superficie completa del medio en caja de petri 3 veces, girando el medio 60 grados entre cada rayada.

c) Colocar las tapas de las cajas de petri y mantenerlas a temperatura ambiente durante 5 ó más minutos, pero menos de 30 minutos.

4) Aplicar los sensidiscos utilizando un dispensador o manualmente con una distancia entre ellos de 24 mm. por lo menos (Penicilina y derivados 30 mm.)

5) Incubar inmediatamente a 37 C.

6) Examinar las cajas de petri después de 14 ó 19 horas. Medirse milimétricamente la inhibición.

En el siguiente cuadro se indica la interpretación de la zona de inhibición con algunos antimicrobianos de mayor uso:

CARTA INTERPRETATIVA DE ZONAS DE INHIBICION

Agente Antibiotico o quimioterapeutico	Potencia de disco	Resistente	Debilmente sensible	Sensible
Ampicilina	Gram (-) y estreptococos, Estafilococos y organismos muy susceptibles a la penicilina, Haemophilus en agua chocolate.	18 mcg.	11 mm o menos 20 mm o menos	12-13 21-21 14 o mas 29 o mas
Bacitracina		10 mcg.	6 mm o menos	9-12 13 o mas
Carbencilina		30 "	17 mm o menos	18-22 23 o mas
Carbocilina		30 "	12 mm o menos	13-15 16 o mas
Cefazolin		30 "	16 mm o menos	17-20 21 o mas
Cefaloridina		30 "	11 mm o menos	12-15 16 o mas
Cefalotina		30 "	14 mm o menos	15-17 18 o mas
Cloranfenicol		30 "	12 mm o menos	13-17 18 o mas
Cilindavicina		2 "	11 mm o menos	12-15 16 o mas
Cloxacilina y dicloxacilina		1 "	9 mm o menos	10-13 14 o mas
Colistina		10 "	8 mm o menos	9-10 11 o mas
Eritromicina		15 "	13 mm o menos	14-17 18 o mas
Gentamicina		10 "	12 mm o menos	13-15 16 o mas
Kanamicina		30 "	14 mm o menos	15-17 18 o mas
Lincomicina		2 "	9 mm o menos	10-13 14 o mas
Lincomicina		30 "	13 mm o menos	14-17 18 o mas
Meticilina		5 "	9 mm o menos	10-13 14 o mas
Nafcilina y oxacilina		1 "	10 mm o menos	11-13 14 o mas
Nc. naldixico		30 "	13 mm o menos	14-17 18 o mas
Neomicina		30 "	12 mm o menos	13-15 16 o mas
Nitrofurantoina		300 "	14 mm o menos	15-17 18 o mas
Novobiocina		30 "	17 mm o menos	18-21 22 o mas
Oleandomicina		30 "	11 mm o menos	12-15 16 o mas
Penicilina G	Estafilococos	16 U. l.	20 mm o menos	21-24 25 o mas
Penicilina G	Otros organismos.	10 U. l.	11 mm o menos	12-15 16 o mas
Polimixina B		300 U. l.	8 mm o menos	9-11 12 o mas
Streptomina		1 mgv.	24 mm o menos	25-28 29 o mas
Streptomina		30 "	14 mm o menos	15-18 19 o mas
Ceftiofur sodico		30 "	17 mm o menos	18-21 22 o mas
Enrofloxacin		30 "	12 mm o menos	13-16 17 o mas
Ofloxacin		30 "	14 mm o menos	15-18 19 o mas
Triplic sulf		250 "	12 mm o menos	13-16 17 o mas
Tetraciclina		30 "	14 mm o menos	15-18 19 o mas
Oxacilina		30 "	9 mm o menos	10-11 12 o mas

- Los multidiscos estan disenados para probarse segun el metodo de difusion en discos de papel filtro de "Bauer-Kirby" con las modificaciones recomendadas por la Food and Drug Administration (FDA) y el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).
- Debe poner especial atencion en la interpretacion de los resultados y en el reporte de los mismos ya que se trata de pruebas basicamente cualitativas, que sirven de guia en la terapeutica, pero que no siguen una estricta correlacion con la actividad de los antibioticos "in vivo", de aqui la importancia a considerar los puntos que fueron comentados en un principio.

POSIBLES FUENTES DE ERROR:

- Uso de otro medio que no sea el de Mueller-Hinton (M-H).
- Preparacion inadecuada del medio M-H, sobre todo la ausencia del control de pH (7.2-7.4).
- Conservacion inadecuada de las placas de petri con medio M-H.
- Almacenamiento inadecuado de los discos con antibioticos.
- Inoculo inadecuado por error en el ajuste de la densidad del microorganismo en el caldo.
- No quitar el exceso de liquido del hisopo antes de inocular las cajas.
- Preparacion o almacenamiento inadecuado del tubo de referencia para la turbidez.
- Retardo excesivo entre la preparacion del inoculo y la inoculacion.
- Retardo excesivo en la aplicacion de los discos despues de la inoculacion a la placa.
- Retardo excesivo en la incubacion de la placa despues de la colocacion de los discos.
- Temperatura variable de 35°C por el uso de una atmosfera con el aumento de CO₂.
- Leotura prematura de los resultados antes de completarse (16-18 hrs).
- No leer cuidadosamente los limites de zonas de inhibicion.
- Intentos de probar cultivos mixtos.
- Aplicacion del procedimiento a microorganismos de crecimiento lento o anaerobios.
- No utilizar cepas de control de calidad o no anotar los resultados de las pruebas de control.
- Error de transcripcion al anotar los resultados de pruebas individuales.

Fuente: Le Lorier, R. A.; Ughlin, S.W. de C.U.

TECNICA DE ELISA
(Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

Fundamento:

Esta técnica se basa en el uso de antígeno o anticuerpos marcados con una enzima, de forma que los conjugados resultantes tengan actividad inmunológica como enzimática. Al estar uno de los componentes (antígeno o anticuerpo) marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte (inmunoabsorbente), el complejo Antígeno anticuerpo quedará inmovilizado y por tanto, podrá fácilmente ser revelado mediante la adición de un sustrato específico que al actuar la enzima, producirá un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro o lector (31,33, 59, 67).

Existen 2 tipos de la técnica de elisa utilizados en aves: Prueba doble indirecta, y prueba indirecta.

Metodología:

Una microplaca de 96 pocitos se cubre con una solución de antígeno inactivado (VENC, VBI, etc), el antígeno se fija a la placa y permanece en ella después de un largo periodo de incubación. Se lava para remover el exceso de antígeno.

A la placa se le adiciona el suero problema, previamente diluidos en una solución buffer, las diluciones más utilizadas son: 1/100 y 1/500.

Si el suero contiene anticuerpos específicos, estos se unirán al antígeno de la placa, durante un periodo de incubación de 30 minutos. Lavar de 3 ó 4 veces, agregándole la enzima ligada a anticuerpos de cabra antigamaglobulina de ave el cual es conocido como conjugado. Incubar por 30 minutos y se lava de 3 a 4 veces.

Agregar el sustrato quien se encarga de la reacción enzimática de color, incubar 15 minutos y la reacción se detiene por la adición de una sustancia conocida como "solución stop".

Lectura de placas a simple vista o con lector automático.

Interpretación

1) Establecer títulos "base", entendiéndose como aquellos que debe tener la parvada para protección (57).

2) Indicar la Densidad Óptica (DO); Valores del suero positivo (SP) y el Título de cada suero probado (58).

$$SP = \frac{(\text{Densidad óptica de la muestra}) - (\text{Promedio SCN})}{CPC}$$

CPC= Control positivo corregido = Promedio SCN - Promedio SCP
 SCN= Densidad óptica promedio de los sueros controles normales o negativos.
 SCP= Densidad óptica promedio de los sueros controles positivos.

Los cálculos matemáticos se pueden hacer manualmente o por medio de una computadora.

Ventajas de la técnica de ELISA.

- Alta sensibilidad, especificidad, rapidez y economía.
- Util para una gran variedad de enfermedades aviares.

Desventajas:

- Alto costo inicial por la compra del equipo y de los kits.

Enfermedades donde se ha utilizado la técnica de Elisa.

BACTERIAS

Pasteurella multocida
 Mycobacterium avium
 Bordetella avium
 Salmonella enteritidis
 Salmonella Typhimurium
 Chlamidia psittaci
 Mycoplasma gallisepticum
 Mycoplasma sinoviae
 Mycoplasma meleagridis
 Reovirus (30)

VIRUS

Enteritis hemorrágica
 Bronquitis infecciosa (30)
 Encefalomielitis aviar
 Laringotraqueitis Infec.
 Enfermedad de Marek
 Influenza aviar
 Enfermedad de Newcastle (30)
 Infección Bolsa Fabricio
 Leucosis linfóide.

VIRUS SUERO NEUTRALIZACION

FUNDAMENTO:

Esta prueba se basa en la neutralización del virus mediante anticuerpos específicos, inoculados en cultivos celulares o huevos embrionados manifestándose un efecto citopático o muerte embrionaria (18, 66).

Esta técnica comprende de 2 fases:

- 1.- Titulación del virus.
- 2.- Seroneutralización del virus.

DILUCIONES DECRECIENTES DE VIRUS-SUERO CONSTANTE

Colocar en una gradilla 10 tubos en fila, marcándolos consecutivamente desde el 10 (-1) al 10 (-10). Poner en cada tubo con una pipeta 4.5 ml. de diluyente.

Depositar en el tubo 10 (-1), 0.05 ml. de líquido con virus. No tocar el diluyente con la pipeta. Empleando otra pipeta, mezclar el contenido del tubo aspirando y expidiendo la mezcla unas 20 veces y evitando la formación de espuma. Emplear la misma pipeta para hacer las diluciones de 0.05 ml. al siguiente tubo. Seguir el mismo procedimiento hasta hacer todas las diluciones usando pipetas distintas para cada uno.

Preparar paralelamente otra fila de tubos, y con una pipeta de 1 ml. agregar 0.03 ml. del diluyente. De cada tubo de dilución del virus pasar su tubo paralelo con diluyente otros 0.03 ml. y mezclar su contenido aspirando y expiriendo la mezcla con la pipeta unas 10 veces. Emplear pipetas distintas para cada dilución. Esto tiene por objeto compensar la dilución creciente del virus cuando se mezcla con partes iguales del suero en la mezcla suero-virus (45).

PREPARACION DE LAS MEZCLAS SUEROS-VIRUS CONSTANTE.

Colocar una fila de tubos detras de las diluciones de virus 10 (-1) a 10 (-6). Cuando se hace VSN para Bronquitis infecciosa, viruela aviar y laringotraqueitis infecciosa. Atras de los tubos del 10 (-6) a 10 (-10), cuando se hace VSN para la enfermedad de Newcastle. Poner 0.03 ml. de suero problema, con una pipeta serológica de 1 ml. A cada tubo se le añade un volumen idéntico de la dilución del virus del tubo correspondiente de la primera fila, empleando para cada caso una pipeta de serología de 1 ml. distinta. Mezclar el suero y el virus unas 10 veces del modo ue antes hemos descrito. La dosis infectante 50% puede suponerse comprendida entre 10 (4) y 10 (5) en el caso del virus de BI, VA y LT. La dosis letal 50% es entre 10 (8) y 10 (9) en el caso del virus de la enfermedad de Newcastle.

Dejar la mezcla suero-virus y los testigos de virus a temperatura del laboratorio durante 30 min.

INOCULACION DE LOS EMBRIONES DE POLLO

Inocular 5 huevos embrionados de 9 a 11 días con cada una de las diluciones de las mezclas suero-virus a razón de 0.1 cc. por huevo, en la cavidad alantoidea en el caso de los virus de BI, ENC, por cámara falsa en el caso de los virus de VA y LT. Emplear una jeringa para cada suero, comenzando por la dilución más alta hasta llegar a la menor (45).

Se hace lo mismo con las diluciones testigos de virus.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Ovoscopiar los huevos a de 12 a 24 hrs de inoculados y luego a intervalos de 24 hrs. hasta el sexto día. La mortalidad en las primeras 12 horas se considera debida a causas inespecíficas. Anotar diariamente las bajas.

Calcular el índice de neutralización de cada suero (comparando los testigos con los inoculados con la mezcla suero-virus viendo las lesiones en los casos de BI, VA, LT y hemoaglutinación en el caso de ENC.

El índice de neutralización se calcula sacando por medio del método de Red and Munch el título del virus y del suero-virus.

El índice de neutralización del suero, es la diferencia en el logaritmo del título del virus contra el suero negativo y el logaritmo de la mezcla suero-virus, no expresado en unidades.

Enfermedades donde se utiliza:

Newcastle.
Bronquitis infecciosa.
Laringotraqueitis Infecciosa Aviar
Viruela aviar.
Infección de la bolsa de Fabricio.

AGLUTINACION EN PLACA

Fundamento:

La prueba de aglutinación en placa (Serum Plate Agglutination, SPAT). En esta prueba los anticuerpos establecen uniones cruzadas con los antígenos particulados, permitiendo que se agrupen o aglutinen la unión antígeno-anticuerpo (66, 18).

Técnica:

Esta consiste en mezclar una gota de antígeno con una gota de suero o sangre completa (0.02 ml.) en placa de vidrio, agitando suavemente con movimientos rotatorios de 2 a 3 minutos, procediendo a su lectura (25).

Interpretación:

La prueba se da como positiva cuando hay formación de grumos.

Ventajas:

Es muy sensible, ya que detecta anticuerpos tanto IgM como IgG, siendo el primero en detectarse más tempranamente (25, 60, 66).

Es una prueba económica y fácil de realizar (25, 60).

Desventajas:

La prueba puede ser inespecífica, estos pueden ser algunos factores:

La congelación del suero o del antígeno, Infecciones por Staphylococcus, uso de vacunas inactivadas, reacciones cruzadas, presencia de polvo y temperatura ambiente (25).

Enfermedades donde se utiliza:

Salmonelosis, (Pulorosis, tifoidea aviar y antígeno K polivalente).

Micoplasmosis (M. sinovae y M. gallisepticum)

Coriza infecciosa.

INMUNODIFUSION EN AGAR

Fundamento:

Esta técnica se fundamenta en la precipitación de los anticuerpos y los antígenos solubles que se unen en una zona de equivalencia, formando líneas de identidad en una placa de agar (66).

Técnica:

Poner 4.2 ml. de agar dentro de una caja de petri, dejándolo solidificar.

Hacer unos pozos de aproximadamente 5.3 mm de diámetro con 2.4 mm de distancia entre ellos. Estos deben penetrar la placa de agar.

Llenar los pozos con el antígeno con el antisuero de referencia y el suero muestra.

Colocar las cajas en una cámara húmeda a temperatura ambiente (18).

Interpretación:

El antígeno y el antisuero de referencia (o control positivo) deben formar una clara banda o línea de precipitación, que debe estar ausente cuando la reacción es negativa (45).

Esta prueba es cualitativa y sólo dice si la parvada ha tenido o no contacto con determinados antígenos, aunque también puede ser cualitativa por medio de diluciones de suero.

Ventajas:

Permite diferenciar entre varios antígenos (66).

Sencillez en la observación de las líneas de precipitación (45).

La lectura puede hacerse después de unas horas o días (12 a 48 hrs) dependiendo de la concentración de antígeno y anticuerpo.

Detecta tanto la presencia de antígeno como de anticuerpos.

Detecta anticuerpos tanto de suero como de yema.

Enfermedades en la que se utiliza:

Reovirus	Artritis viral
Encefalomiелitis aviar	Influenza aviar
Infección de la bolsa de Fabricio.	
Enfermedad de Marek	
Bronquitis infecciosa	

FIJACION DE COMPLEMENTO

Esta prueba se basa en el efecto biológico de la lisis celular del complemento cuando este es fijado por una reacción antígeno-anticuerpo donde el antígeno es una célula (Glóbulos rojos) y el anticuerpo esta dirigido contra estructuras celulares (causando hemólisis) (28).

Existen dos técnicas la directa y la indirecta esta última utilizada en aves, ya que con la prueba directa las aves son incapaces de fijar el complemento de un mamífero (66).

1.- El suero sospechoso es inactivado calentandolo a 56 grados centigrados por 30 minutos para descomplementarlo.

2.- La muestra de suero sospechoso y antígeno se incuba en presencia de complemento.

3.- Adición de un suero positivo de conejo contra el antígeno.

4.- A continuación se añade el sistema hemolítico y se incuba nuevamente (41).

Interpretación:

<u>Aspecto del tubo</u>	<u>R e s u l t a d o</u>
Sedimentación	N e g a t i v a .
Hemólisis	P o s i t i v a .

Ventajas:

El punto final de la fase de reacción es fácil de leer.

A diferencia de las pruebas de hemoaglutinación no depende de la precipitación de eritrocitos y es menos probable el fenómeno de prozona, además no requiere de suspensiones purificadas de antígenos.

Por medio de la dilución se puede medir la cifra de anticuerpos en el suero (41).

Desventajas:

El más grave inconveniente de esta prueba es su complejidad.

Enfermedades donde se utiliza:

Marek
Psittacosis

INMUNOFLUORESCENCIA

La prueba se basa en que el anticuerpo es marcado con colorantes fluorescentes (isotiocianato de fluoresceína o rodamina), para formar un conjugado, presentándolo a la muestra que contiene el antígeno, formando un complejo antígeno - anticuerpo (16).

Descripción de la técnica:

- 1.- Hacer improntas del órgano problema.
- 2.- Fijar en acetona, durante 15 a 20 minutos.
- 3.- Dejar secar la acetona.
- 4.- Aplicar el conjugado inmunofluorescente, para la enfermedad en cuestión.
- 5.- Incubar a 35 grados centígrados en cámara húmeda.
- 6.- Escurrir el conjugado.
- 7.- Se lava la muestra en solución bufferada de fosfatos.
- 8.- lavar con agua bidestilada con movimiento constante durante 10 minutos para evitar el exceso de conjugado.
- 9.- Dejar secar a medio ambiente.
- 10.- Aplicar una gota de glicerina y colocar cubreobjetos.
- 11.- Observación en microscopio de fluorescencia (5).

Interpretación:

Cuando se utiliza isotiocianato de fluoresceína, se observa una fluorescencia verde amarilla brillante o parda rojiza con rodamina (16).

Ventajas:

Alta sensibilidad, fácil de realizar, rápida y con el tiempo de implementada la técnica tiene un bajo costo.

Detecta antígeno en órganos contaminados o cuando éste ya no es reactivo.

Se pueden detectar antígenos intracelulares.

En la conservación y transporte de las muestras sólo se requiere de refrigeración o congelación (16).

Desventajas:

Inicialmente el equipo es costoso.

Requiere de extrema precaución en el manejo del conjugado, por que es sumamente alterable a los cambios ambientales.

Enfermedades donde se utiliza:

- 1.- Infección de la bolsa de Fabricio.
- 2.- Laringotraqueitis infecciosa aviar.
- 3.- Enfermedad de Newcastle.
- 4.- Micoplasmosis.
- 5.- Cólera aviar.

En general esta técnica puede detectar cualquier sustancia antigénica dentro o fuera de las células, como protozoarios, bacterias, rickettsias, virus antígenos tisulares, hormonas y enzimas (6).

INMUNOPEROXIDASA

Esta se basa en la habilidad de anticuerpos específicos marcados con enzimas que localizan y se unen a su correspondiente antígeno. Dependiendo del tipo de método empleado de IP, uno o varios anticuerpos pueden ser utilizados en la reacción (44).

Existen numerosos procedimientos para inmunoperoxidasa, los más comúnmente empleados en el diagnóstico de la medicina veterinaria son: la técnica peroxidasa-antiperoxidasa y el complejo avidina-biotina (4).

Técnica peroxidasa-antiperoxidasa (PAP).

El complejo de peroxidasa-antiperoxidasa, consta de un anticuerpo dirigido contra peroxidasa de raíz fuerte y un antígeno de peroxidasa raíz fuerte que forma un complejo inmune estable. Este complejo de PAP se une al anticuerpo primario dirigido contra un marcador específico que es buscado en la célula o tejido por un medio de un anticuerpo primario y que sirve como puente (4, 68).

Complejo avidina-biotina (ABC).

La avidina es una glicoproteína que esta presente en la clara de huevo y la biotina es una vitamina del grupo de la vitamina B1, que tiene propiedad de poderse conjugar con varias moléculas de peroxidasa además de la alta afinidad por la avidina. Este método incluye muchas moléculas de peroxidasa más que en el método de PAP (4, 68).

Interpretación:

Cuando se utiliza la diaminobenzidina (DAB) es usado como cromógeno, la reacción positiva se caracteriza por la presencia de gránulos color café.

Ventajas:

Altamente sensible y específico se puede trabajar con altas diluciones del anticuerpo primario.

Requiere de un equipo menos costoso que el de inmunofluorescencia.

Se puede realizar en tejidos fijados con formol al 10%, líquido de Bouin, además en tejidos incluidos en parafina en improntas, aspirados o raspados, en laminillas procesados por técnicas habituales o también en una misma sección de tejido se puede realizar más de una reacción de IP.

La ventaja más importante es que la reacción es permanente.

Desventajas:

Pueden resultar falsos positivos debido a: 1) La Peroxidasa endógena en las células de los tejidos 2) La reacción cruzada del anticuerpo con antígenos diferentes del que se está buscando 3) Combinaciones no específicas.

Puede darse comúnmente una mala interpretación de los resultados, debido a fallas en el seguimiento de la técnica o el criterio adecuado, ya que se necesita un técnico familiarizado con el procedimiento.

HEMOAGLUTINACION

Fundamento:

Esta se fundamenta en la capacidad de algunos virus y bacterias para hemoaglutinar los eritrocitos de mamíferos y aves (66).

Colocar 0.025 ml. de virus diluido 1/5 haciendo diluciones dobles a partir de estos.

Agregar 0.2 ml. de suero a todos

Se recomienda hacer lecturas a intervalos de 15 min. con la finalidad de evitar errores en la lectura. A partir de que el control de glóbulos rojos precipite.

Para obtener un virus con título de 10 UHA, dividir el título obtenido originalmente en la prueba de hemoaglutinación entre 10.

El punto final de la actividad hemoaglutinante del virus se considera que es la dilución más alta en la que se produce un resultado positivo (hemoaglutinación).

Interpretación de los resultados:

La reacción positiva consiste en la formación de un depósito uniformemente aglutinado que cubre todo el fondo del tubo.

La reacción negativa consiste en la formación de un sedimento compacto a manera de un botón que cubre todo el fondo del tubo.

Ejemplo, el título original es 1:160 por lo tanto 160/10 es igual a 16, esto es igual a 1:16 por lo tanto, se utilizará una parte de virus por 15 de PBS.

INHIBICION DE LA HEMOAGLUTINACION

Fundamento:

Esta prueba se basa en la capacidad de los anticuerpos específicos presentes en el suero para evitar la hemoaglutinación de algunos virus y bacterias con actividad hemoaglutinante (16)

Tratamiento del suero:

Para inactivar el complemento del suero, poner a baño maría a 56 grados centígrados durante 30 min. (66).

Diluir los sueros a 1:5 (0.2 ml. de suero más 0.8 ml de PBS).

Agregar una pizca de caolín, como absorbente de inhibidores no específicos de la hemoaglutinación, homogenizar e incubar a medio ambiente 30 min.

Existen dos métodos para la técnica de inhibición de la hemoaglutinación que son el método alfa y el método beta, más comunmente utilizado (66).

Método alfa, virus-suero diluido constante.

Hacer diluciones dobles o con factor dos de dilución, se diluye el suero en proporción de 1/5, se hace reaccionar en tubos o placas de microtitulación de 96 pozos, tanto el virus sin diluir como con diluciones decrecientes del mismo, desde 1/5 hasta 1/1280 ó 1/2560.

Homogenizar las mezclas de suero-virus e incubar 15 minutos. Agregar a cada tubo 0.25 ml. de una suspensión de globulos rojos lavados de pollo al 5%.

Se deja reposar dando lectura a intervalos de 15, 30, 45 y 60 minutos.

Interpretación de los resultados:

La inhibición consiste en la formación de un sedimento compacto en forma de botón, el título del suero es la dilución más alta de éste que consigue inhibir la hemoaglutinación. Otra forma de expresar el título de la IH del suero problema es multiplicando el título del suero por el número UNA en la reacción.

Un ave nunca expuesta al virus puede tener un título de HI de 5-10. Títulos de 40 se consideran sospechosos. Títulos con 80 o mayores se consideran positivos a la enfermedad de newcastle.

Método Beta, suero-virus diluido constante:

Se hace reaccionar en tubos o placas de microtitulación, cantidades constantes de virus (4 o 10 UHA) con cantidades decrecientes de suero, desde 1/5 hasta 1/2560.

Mezclar suavemente las diluciones, dejar incubar 10 minutos a temperatura de 20 a 25 C, agregando a cada uno de los tubos 0.25 ml de una suspensión de eritrocitos de pollo al 5% que se mezclan por agitación, dejando luego en reposo para efectuar la lectura en la misma forma que el método alfa.

Interpretación:

El título del suero, es el recíproco de la dilución más elevada del suero en la cual la HA del virus es completamente inhibida, multiplicado por el número de UHA usadas en la prueba

Titulos de HI de 5-10 se consideran normales y titulos de 20 ó mayores son positivos.

Enfermedades donde se utiliza la técnica:

Micoplasmosis, enfermedad de newcastle, influenza aviar, síndrome de baja postura, bronquitis infecciosa

HEMATOLOGIA

GENERALIDADES:

La biometría hemática no se realiza, como prueba específica de una enfermedad pero sirve de auxiliar para detectar alteraciones sufridas por el organismo, ya que la sangre tiene una íntima relación con este (65).

Hay factores como son edad, raza, sexo, estrés, ambiente, alimentación que influyen en la cuenta eritrocítica y leucocítica, además es necesario realizar el conteo siguiendo el curso de la enfermedad, para obtener un valor significativo.

La biometría hemática consta de las siguientes pruebas (10):

1.- Hematocrito: Expresa el porcentaje de los glóbulos rojos de una muestra de sangre.

2.- La cuenta total de eritrocitos: Expresa la cantidad de glóbulos rojos en microlitros.

Concentración de hemoglobina y cálculos de los parámetros:

3.- Concentración de hemoglobina corpuscular media (HCM).

4.- Concentración media de hemoglobina corpuscular (CMHC).

5.- Volumen corpuscular medio (VCM).

Cuenta leucocitaria:

6.- Cuenta total de leucocitos.

7.- Cuenta diferencial de leucocitos.

Hematocrito:

La manera más fácil y rápida es mediante el uso del microhematocrito, este se realiza con tubos capilares y microcentrifuga.

Cuenta total de eritrocitos:

Esta puede ser determinada utilizando un contador electrónico (Coulter Counter) o métodos manuales usando pipetas y cámara de new bauer (Hematocitómetro).

Hemoglobina:

Existen varios métodos para determinar hemoglobina: oxihemoglobina, cianometahemoglobina, hematina ácida y comparación directa. Estos métodos se basan en la utilización de varios instrumentos para su medición algunos utilizan sustancias químicas combinadas con la sangre o simplemente sangre fresca.

Una vez obtenido el hematocrito, la hemoglobina y la cuenta total eritrocítica se obtienen los índices eritrocíticos con las siguientes fórmulas.

Concentración de hemoglobina corpuscular medio (HCM).

$$\text{HCM} = \frac{\text{Hemoglobina g/dl.} \times 10}{\text{Cuenta total de eritrocitos (millones/microlitro).}}$$

Concentración media de hemoglobina corpuscular (CMHC).

$$\text{CMHC} = \frac{\text{Hemoglobina g/dl.} \times 100}{\text{Hematocrito}}$$

Volumen corpuscular medio.

$$\text{VCM} = \frac{\text{Hematocrito} \times 10}{\text{Cuenta total de eritrocitos (millones/microlitro).}}$$

Estos valores son utilizados para determinar los cambios morfológicos de anemia.

Cuenta total leucocitaria.

Debido a la similitud entre la morfología de las células blancas se utilizan métodos indirectos como el Unopette 587, obteniéndose la cuenta de heterófilos y eosinófilos, así la cuenta total leucocitaria se obtiene mediante la siguiente fórmula:

$$\text{CTL} = \frac{\text{No. de Cels. teñidas en la cámara} \times 1.1 \times 16 \times 100}{\text{Porcentaje de heterófilos y eosinófilos.}}$$

En el método directo se utiliza la solución de Natt y Henricks que permite el conteo de las células blancas y rojas. La cuenta leucocitaria se obtiene contando los 9 cuadros grandes en el hematocímetro.

CTL = Total de leucocitos en los 9 cuadros + 10% del total de la CTL X 200.

Debido a la variación existente entre individuos de la misma especie se debe de tomar muestras repetidas de la misma ave/lote.

Cuenta diferencial de leucocitos.

La evaluación de los leucocitos (Leucograma) tiene un gran valor diagnóstico para lograr un seguimiento secuencial de la enfermedad, cuando se realiza en conjunto con las demás pruebas hematológicas.

Para considerar que las variaciones en la cuenta leucocitaria sean significativas deberán estar elevados o disminuidos dos o tres veces su valor normal.

<u>RESULTADO</u>	<u>CAUSAS</u>
LEUCOPENIA	Septicemias graves, viremia y exposición a sustancias tóxicas.
LEUCOCITOSIS	Lesiones inflamatorias, clamidiosis, enfermedades por <i>Mycobacterium</i> sp., infecciones piogénicas y necrosis tisular masiva.
HETEROFILIA	Enfermedades inflamatorias, septicemias graves.
HETEROPENIA	Septicemias muy severas, toxinas, fase inicial de enfermedades virales, drogas.
LINFOPENIA	Enfermedad viral aguda ó crónica.
LINFOCITOSIS	Infecciones virales crónicas, granulocitopenia.
MONOCITOSIS	Enfermedades crónicas, granulomatosas, infecciones por <i>Mycobacterium</i> , clamidiosis, destrucción tisular masiva.
EOSINOFILIA	Infecciones por parásitos, que producen daño tisular externo.
BASOFILIA	Condiciones adversas patológicas o del medio ambiente que producen tensión en el ave.
HETEROFILIA ABSOLUTA	(Con desviación a la izquierda) Inflamación aguda o crónica grave; infecciones piogénicas, micóticas o bacterianas, que causan necrosis masiva.
HETEROFILIA TOXICA	(Con vacuolización y basofilia) inflamación séptica.
ANEMIAS	(Hematocrito menor de 35%): Regenerativa con policromasia, anisocitosis y reticulocitosis: a) Hemorragias: traumatismos, ectoparásitos, parásitos gastrointestinales, neoplasias ulceradas, choque y tensión.

b) Hemolisis: plasmodium, Aegyptianella, aflaxi-
cosis, tóxicos químicos.

No regenerativa sin reticulocitosis:

a) Infecciones crónicas, deficiencias de hierro
ácido fólico, sustancias tóxicas, leucosis -
aviar, enfermedad, renal crónica.

TROMBOSIS Septicemias graves, parasitemias severas.

TROMBOCITOPENIA Septicemia, coagulación intravascular diseminada
neoplasia hematopoyética, sustancias tóxicas.

Fuente: Tamayo, M., 1991.

TOXICOLOGIA

Condiciones generales:

Se debe de tener en cuenta que el total de casos en intoxicación cuyas muestras se envían para el análisis toxicológico nada más en un 20-30% se determina el tóxico (49).

Los resultados químicos positivos no constituyen siempre evidencia de intoxicación ni los resultados negativos indican que no hubo toxicosis (49).

En el criterio de un diagnóstico exacto de toxicosis se debe realizar utilizando información sobre los siguientes 5 puntos:

- a) Historia clínica.
 - b) Signos clínicos.
 - c) Hallazgos post-mortem (necropsia).
 - d) Pruebas de laboratorio.
 - e) Pruebas con animales de laboratorio.
 - f) Además se consideraran las evidencias circunstanciales.
- (49, 67)

Las pruebas usadas para el estudio toxicológico son las siguientes:

- 1.- Cromatografía en capa delgada.
- 2.- Cromatografía general de gas.
- 3.- Espectrofotometría de absorción atómica.

Cromatografía en capa delgada.

Es un medio para separar entidades químicas del líquido a sólido. La acción capilar hace que el solvente se eleve en una capa de vidrio con una fase sólida, el líquido en la fase móvil es colocado en un tanque cerrado permitiendo humedecer el fondo de la placa por debajo del área muestra, sobre la placa. El solvente se desplaza sobre la superficie de sustrato sólido haciendo una división entre las sustancias de la placa. Los solventes se mueven rápidamente hacia arriba, los compuestos disueltos se mueven muy lentamente permitiendo la separación con compuestos similares (69).

Cromatografía general de gas.

Es un proceso para la separación y análisis de compuestos con características moleculares similares. Su poder de resolución es mayor que el TLC. El compuesto de interés es distribuido entre la fase gaseosa y la fase líquida. El intercambio es muy rápido y como los elementos son pequeños se obtiene una buena relación entre compuestos similares en la detección selectiva se usa la captura de electrón para compuestos con alta afinidad. Los organoclorados y organofosforados pueden ser determinados con un detector fotométrico. Para la detección de estos compuestos en una muestra que contenga de 10^{-9} a 10^{-12} grs., es posible dada a la

alta sensibilidad de esta prueba. Una temperatura de 5 grados más que del punto de ebullición es necesaria para alcanzar la fase de evaporación del compuesto analizado (69).

Espectrofotometría de absorción atómica:

Es una herramienta analítica para determinar cantidades traza de metales en muestras biológicas esta prueba depende de la absorción por átomos de un quantum de energía de longitud de onda característica, cuando va de un estado de tierra a un estado de excitación, por ejemplo los átomos de plomo absorben energía en 283.3 nm., y el calcio absorbe energía en 422.7 nm., esta prueba usa estos hechos para alcanzar una alta especificidad para muchos elementos y un bajo nivel de interferencia de otros elementos o un complejo matriz (69).

La muestra analizada debe de estar en un estado molecular atómico determinado, siendo necesario romper los lazos moleculares para obtener átomos libres mediante una flama de aire acetileno (69).

Los átomos en estado de tierra absorben energía emitida por la lámpara y se van a un estado de excitación, siendo llevados fuera del sistema por la llama regresando a un estado de tierra liberando energía (69).

La cuantificación se obtiene cuando el nivel de salida de la lámpara no sujeta a los átomos muestra, es comparada con el nivel de la lámpara absorbiendo estos átomos.

En la lámpara la energía es dividida en dos haz de luz una es dirigida alrededor de la flama y la otra para directamente alrededor de la flama estos dos haz serán iguales si no existen átomos del elemento en cuestión presentes en la muestra.

Si un elemento esta presente la absorción tomará lugar en el haz muestra, cambiando a razón de dos haz, que será medido electrónicamente y grabado externamente. Cada átomo absorberá una cantidad específica de energía de la lámpara, la diferencia entre los dos haz es directamente proporcional a los átomos presentes en la flama.

Con el monocromómetro se selecciona la angostura de la longitud de onda reduciendo así la emisión de la flama (69).

LITERATURA CITADA

- 1.- Aluja, S. A.: Necropsias en animales domésticos, Ed. CECSA, México, D. F. (1986).
- 2.- Arriaga, C. M.: Prueba rápida de Aglutinación en Placa para la Detección de Infecciones Producidas por *Mycoplasma gallisepticum* y *M. sinoviae*, Manual de Inmunología Editado por: Morilla y Bautista,
- 3.- Austic, R. E.; Card, L. E.; Nesheim, M. C.: Poultry production, 12 ed. Bailliere Tindall, USA, (1979).
- 4.- Avrameas, S.; Ternynck, T.: Técnicas de Inmunología, Técnicas Inmunoenzimáticas, Ed. Iberoamericana, México, D. F. (1989).
- 5.- Banda, C. A.: Estudio de la patogenia de la enfermedad hemorrágica viral de los conejos (E.H.V.C) mediante la observación de lesiones macroscópicas, microscópicas e inmunofluorescencia en conejos domésticos (*Oryctolagus cuniculus*) inoculados experimentalmente, Tesis de licenciatura, F.E.S.C-UNAM (1992).
- 6.- Banda, C. A.: Inmunofluorescencia en diagnóstico de IBF, Acontecer avícola, 7: 57-69 (1994).
- 7.- Baumel y Col.: *Nonima anatomica Avium*, Ed. Academic Press, Great, Britain (1979).
- 8.- Barrón, F. L.: Monitoreo microbiológico en la incubadura, Curso de actualización sobre el criterio diagnóstico en la práctica avícola., ANECA, México, D.F. 1992.
- 9.- Beard, C.: Serologic Procedures, In: Laboratory Manual for the Isolation and identification of avian pathogens, Edited by: Purchase, H. G.; Lawrence, H. A.; Charles, H. D.; Pearson, J. E.; 192-201. American Assoc. of Avian Pathologists, Pennsylvania, USA, (1989).
- 10.- Benjamin, M.M., Manual de Patología clínica veterinaria, LINUSA, México D. F. (1984).
- 11.- Blodgett D.J., Investigación de intoxicaciones en las aves.; El correo avícola, 6: 7-11, (1991).
- 12.- Blood, C. D.; Henderson, J.A.: Medicina Veterinaria, 5ta. Ed. Interamericana, México, D.F. (1982).
- 13.- Benjamin, M. M.: Manual de patología Clínica Veterinaria, Ed. LINUSA, México, D. F. (1984).
- 14.- Calnek, B. W.: Diseases of Poultry, Ninth Edition, Iowa, State University Press, Ames, Iowa USA (1991).
- 15.- Carpenter, P. L.: Inmunología y serología, 2da. Ed. La Prensa Médica Mexicana, México, (1991).

- 16.- Ceniceros, R.M.A.: Diagnostico por inmunofluorescencia, Memorias, II jornada Medico Avicola, Depto. de Prod. Animal, F.M.V.Z.-UNAM (1991).
- 17.- Cunningham, C. H. Virologia Practica, 3ra. Ed. Acribia, Zaragoza, España, 1992.
- 18.- Dinter, Z.; Diagnostico Virology: A Review of methods at the National veterinary institute. Edited by Moreno, J. and Lopez, Swedish University of Agricultural Sciences, National Veterinary Institute, Uppsala, Sweden; Swedish International, Developing Authority (1989).
- 19.- Dwights, L.; Bickford, A.: Necropsia en Aves, Correo Avicola, La revista avicola de México, No. 6: 14-19 (1991).
- 20.- Eduardo, L.D. Metodos de Sacrificio, Recolección y Envio de Muestras al Laboratorio 2do. Curso de actualización en necropsias de las aves F.M.V.Z. UNAM. (1989).
- 21.- Fritzsche, K.H.; Gerriets, E.: Enfermedades de las aves (Tratado de patologia aviar para veterinarios y Estudiantes de Veterinaria) 2da. Ed. ACRIBIA, Zaragoza, España, (1962).
- 22.- García, T. R.; Córdoba, P. R.: Manual Ilustrado de las Técnicas de Laboratorio Utilizados en Microbiología Veterinaria, Bacteriología y Micología, Tesis de Licenciatura, F. E. S.C-UNAM, (1985).
- 23.- Gentry, R.F.; Quarles, C. L.: The Measurement of Bacterial Contamination on Egg Shell, Poultry Science, 51: 930-933 (1972).
- 24.- Gómez, S. J. J.: La Historia Clínica: Su importancia en el Diagnóstico de las Enfermedades de las Aves, Memorias, 2do. Curso de Actualización en Necropsias de las Aves, F.M.V.Z.-UNAM (1989).
- 25.- Glisson, L. R.: Diagnóstico de la Micoplasmosis, Memorias, Curso sobre Actualización sobre el criterio diagnóstico en la práctica avícola, ANECA, México, D. F. (1992).
- 26.- Gordon, R. F.; Jordan, F. T. W.: Enfermedades de las Aves, 2da. Ed. Manual Moderno, México, D. F. (1985).
- 27.- Hichtner, S. B. Virus propagation in embryonating eggs, Int A Laboratory Manual for the isolation and identification of avian pathogens. Edited by: Purchase, H. G.; Lawrence, H. A.; Charles, H. D.; Pearson, J. E.: 176-181: American Assoc. of Avian Pathologist, Pennsylvania, USA (1989).
- 28.- Humphrey, J. H.; White, R. G.: Inmunología Médica. 2da. Ed. TORREY, Zaragoza, España, (1970).
- 29.- Keilbach, B. N.: Manual de Necropsias en animales domésticos, Tesis de licenciatura, F.E.S.-Cuautitlán, UNAM, (1984).

- 30.- Keck, L. D.; Skeeles, J. K., McNew, R. W.: Antibody detection in matched chicken sera and egg-yolk samples by commercial enzyme-linked immunosorbent assay kits for Newcastle disease virus, infectious bronchitis virus, infectious bursal disease virus, and avian reovirus, Avian Diseases 37: 3, 825-828 (1993).
- 31.- Kellher, C.: Interpretación de los resultados de la prueba de ELISA, Memorias, Actualización sobre la Técnica de ELISA en el diagnóstico Avícola, F.M.V.Z.-UNAM, (1992).
- 32.- Kelly, W. R.: Diagnóstico Clínico Veterinario, 5ta. Ed. Continental, (1977).
- 33.- León, E. M.: Desarrollo y Descripción de la Técnica de ELISA en el Diagnóstico Avícola, Memorias, III Jornada Médico Avícola, Depto. de Prod. Animal, FMVZ-UNAM, (1992).
- 34.- Liberona, P.: Bioseguridad en Granjas de Reproducción, University of Guelph e International Poultry Consultants. II Seminario Internacional de reproducción e Incubación Avícola, Junio 1-5, (1992).
- 35.- Lorier, R. A.: Interpretación de Antibiogramas, Memorias, Curso de Actualización sobre Criterio Diagnóstico en la Práctica Avícola, ANECA, México, D. F. (1992).
- 36.- Lucio, D. E.: Métodos de Sacrificio, recolección y envío de Muestras al Laboratorio, Memorias, 2do. Curso de Actualización en Necropsias de las Aves, 8-21: FMVZ-UNAM, México, D. F. (1989).
- 37.- Marek, J.: Tratado de Diagnóstico Clínico de las Enfermedades Internas de los Animales Domésticos, Ed. Labor, Barcelona, España (1973).
- 38.- Medway, W.: Patología Clínica Veterinaria, UIHEA, (1973).
- 39.- Merino, M. M.: Resultado del Antibiograma y su relación con la situación de Campo, Memorias de apoyo al laboratorio de diagnóstico, ANECA, Monterrey, N. L., (1985).
- 40.- Monroy, G. M.: Principios Básicos sobre bioseguridad, Memorias, III Jornada Médico Avícola, Depto. de Prod. Animal, F.M.V.Z.-UNAM (1992).
- 41.- Montano, H. J. A.: Utilización de la Prueba de Fijación de Complemento para detectar anticuerpos en yema de huevo en la enfermedad de Marek. Tesis de licenciatura, F.M.V.Z.-UNAM, (1975).
- 42.- Mosqueda, J. A.; Lucio, M. B.: Enfermedades Comunes de las Aves Domésticas, F.M.V.Z.-UNAM, (1985).

- 43.- Mosqueda, J. A.: Bioseguridad, Base de la eficiencia en la Avicultura, II Jornada Médico Avícola, Depto. de Prod. Animal. F.M.V.Z.-UNAM: 19-23 (1991).
- 44.- Mohanty, S. B.: Virología Veterinaria, Ed. Interamericana, México, D. F. (1983).
- 45.- Morilla, G. A.: Introducción a las Pruebas de Inmuno-diagnóstico. En: Manual de Inmunología, Editado por: Morilla, G. A.; Bautista, G. G. R.: 23-26 Ed. DIANA, México, D. F. (1986).
- 46.- North, M. O.; Dell, D. D.: Manual de Producción Avícola, 3a. Ed. El Manual Moderno, México, D.F. (1993).
- 47.- Ortiz, A.; Kleben, S. H.: Serological detection of *Mycoplasma synoviae* infection in turkeys, Avian Diseases, 36: 3, 749-752 (1992).
- 48.- Osbaldistein, G. M.: Técnicas de Laboratorio en Bacteriología Clínica Veterinaria, Ed. Acribia, Zaragoza, España, (1984).
- 49.- Osweiler, G. P.; Carson, T. L.; Buck, W. B.; Selder, G. A.: Clinical and Diagnostic Veterinary Toxicology, 3era. Ed. Kendall/Hunt, Publishing co. Iowa (1975).
- 50.- Pacheco, C. J.; González, P. R.: Propedéutica Clínica Veterinaria, Ed. CECSA, México, D. F. (1991).
- 51.- Pérez, M. V.: Diagnóstico de Enfermedades Virales y Bacterianas por Inmuno Ensayo Enzimático (ELISA) Memorias de Actualización Sobre las Técnicas de Elisa En el diagnóstico Avícola, F. M. V. Z.-UNAM (1992).
- 52.- Pérez, M. V.: Aplicación práctica de Aglutinación en Placa y doble inmunodifusión en el diagnóstico de las enfermedades aviares, Memorias, Curso de Inmunología Aviar, F.M.V.Z.-UNAM: 28-34 México, D. F. (1984).
- 53.- Perusquia, J. T.: Necropsias en Aves, Ed. TRILLAS. México, D. F. (1987).
- 54.- Perusquia, J. T. Técnica de Necropsias. Memorias de apoyo al laboratorio de diagnóstico, ANECA, Monterrey, N. L. Octubre (1985).
- 55.- Quintana, L. J. A.: Avitecnia, 2da. Ed. Trillas, México, D.F. (1990).
- 56.- Rockborn, G.; Klingeborn, B.; Juntti, N. Edited by: Moreno, J and López In: Virology Diagnostic, Guide book to procedures (1990).

- 57.- Rubio, G. E.: Diagnóstico de enfermedades virales y Bacterianas Aviares por Inmunoensayo Enzimáticos (ELIZA), Memorias, actualización sobre la técnica de ELISA en el Diagnóstico Avícola F.M.V.Z. UNAM, (1992).
- 58.- Rubio G.M.E. Interpretación de los resultados obtenidos en la técnica de ELISA, Memorias, III Jornada Médico Avícola. Depto de Prod. Animal, F.M.V.Z.-UNAM, 191-193 (1992).
- 59.- Sánchez, J. M.; Cambra, A. M.: Técnicas Inmunoenzimáticas ELISA en Patología Animal y Vegetal, 2da. Ed. Office International Epizooties (1987).
- 60.- Septien, T. J.: Control de la micoplasmosis, Memorias, I Jornada Médico Avícola, Depto. de Prod. Animal, F.M.V.Z.-UNAM (1990).
- 61.- Simeopietri, H. R.: Enfermedades de las Aves domésticos, ED. ATENEO, Argentina, Buenos Aires (1945).
- 62.- Schwartz, L. D.: Manual de Sanidad, Ed. UTHEA, (1972).
- 63.- Schwartz, L. D.; Bickford, A. A. Necropsia en aves, El correo Avícola, 6: 14-19 (1991).
- 64.- Soto, E.P.: Inmunización en las Aves, Memorias, V Jornada Médico Avícola, F.M.V.Z.-UNAM (1995).
- 65.- Tamayo, S. M.: Hematología Aviar, Memorias, II Jornada Médico Avícola, Depto. de Prod. Animal, F.M.V.Z.-UNAM, 275-283 (1991).
- 66.- Tizard, I.: Inmunología Veterinaria. 3a Ed. Nueva Editorial Interamericana, México, D. F. (1989).
- 67.- Tsukamoto, K; Hasebe, M.; Kakita, S.; Hihara, H.; Kono, Y.: Identification and characterization of hens transmitting avian leukosis virus (ALV) to their embryos by ELISA for detecting infectious ALV, ALV antigens and antibodies to ALV, Poultry Diseases, 53: 5, 859-864 (1991).
- 68.- Tavera, C.S.; Colin, F. R.: Aplicaciones de la Técnicas de Inmunoperoxidasa como Método de ayuda en el Diagnóstico e investigación en Medicina Veterinaria, Memorias, II Jornada Médico Avícola, Depto. de Prod. Animal F.M.V.Z.-UNAM (1991).
- 69.- Mhde, j; Kysey, P.F.; Sthar, H.M.; Analytical Toxicology Methods Manual, Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA (1977).
- 70.- Zavaleta, B.D.:Recolección y envío de muestras al laboratorio de diagnóstico, ANCA, Monterrey, N.L. octubre (1985).