



USO



APLICACIÓN

DE LÍNEAS BASE


EN **SEROLOGÍA**  
**ELISA**



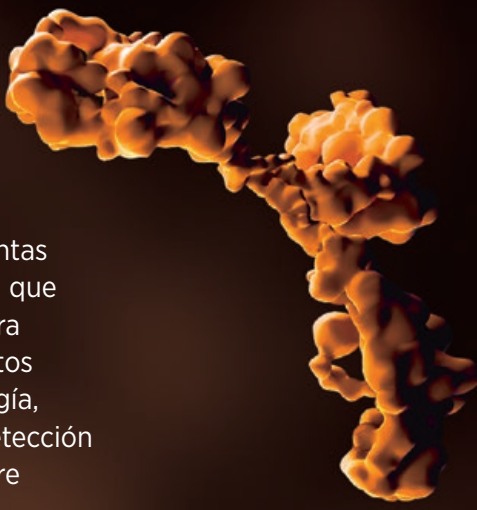
*Louise Dufour-Zavala*

*Directora ejecutiva, Georgia Poultry Laboratory Network*

patología



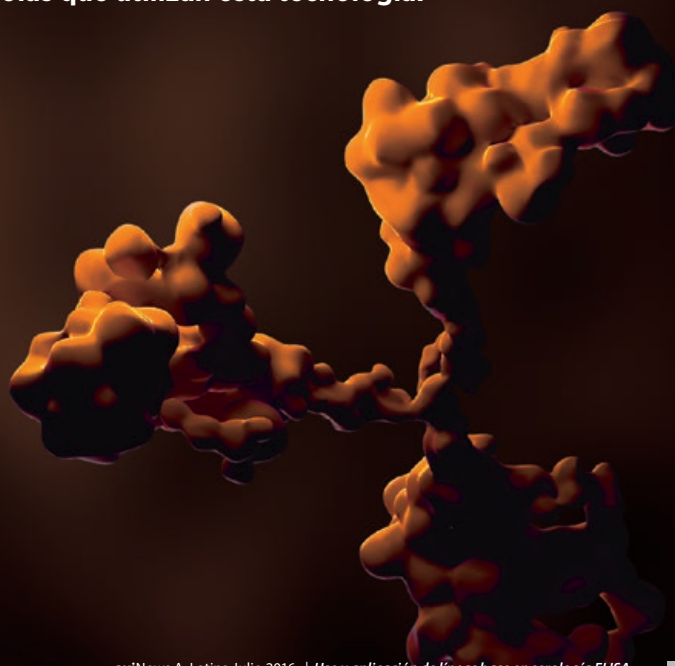
Las circunstancias sanitarias de la industria avícola en diversas regiones tienden a variar al menos ligeramente.



Sin embargo, las herramientas de diagnóstico y vigilancia que utilizan los veterinarios para entender diferentes aspectos en sanidad avícola (serología, virología, bacteriología, detección molecular, etc.) son siempre muy similares entre sí.

El uso de la **tecnología ELISA** es realmente universal y ofrece diferentes maneras de manipular los datos para hacerlos útiles en el proceso diario de toma de decisiones.

**El objetivo de este artículo es ejemplificar algunas maneras de analizar los datos serológicos y hacerlos más útiles a las empresas avícolas que utilizan esta tecnología.**



# Uso de ELISA & definición de línea base

La tecnología ELISA utilizada en serología aviar tiene muchas ventajas.

- ✓ Es económica
  - ✓ Específica
  - ✓ Sensible
  - ✓ Fácil de usar
- La generación y tabulación de datos permite el análisis de cantidades sustanciales de resultados serológicos en apenas algunos instantes.**

Esta tecnología es relativamente fácil en su proceso, por lo que es recomendable especialmente para laboratorios que manejan grandes volúmenes de muestras.

**Así, estos laboratorios pueden generar líneas base muy confiables para la industria local.**

Aunque no exista un servicio de laboratorio serológico común para toda la industria de una zona geográfica, de cualquier manera cada empresa puede producir y vigilar sus propias líneas base.




**Las líneas base son muy útiles pues representan valores serológicos expresados a manera de títulos que pueden ser analizados normalmente para ciertos tipos de aves y ciertos grupos de edades**, y considerando cada uno de los diferentes agentes de enfermedad en estas líneas base que conforman promedios de datos históricos.

Cuando se generan datos de laboratorio a partir de resultados ELISA, estos pueden ser comparados con las líneas base representativas para cada tipo de ave, la edad, y el agente de enfermedad en cuestión, así como considerando zonas geográficas específicas.

También pueden compararse los resultados serológicos con los datos históricos de cada empresa

## Estrategias de muestreo

Los tres objetivos más importantes para la serología incluyen:

-  **Vigilancia** para detección de exposición a enfermedad;
-  **Monitoreo** de la respuesta a las vacunaciones; y
-  **Soporte** para el diagnóstico.

Las líneas base se utilizan más comúnmente para satisfacer el segundo objetivo, que concierne a las respuestas a las vacunaciones.

*Sin embargo estos mismos resultados pueden revelar también tendencias de exposición a agentes de enfermedad cuando se analizan cronológicamente.*



En pollos de engorde **no es necesario** hacer pruebas serológicas que representen cada semana de edad

Es cierto que los datos representativos de cada edad en semanas nos ofrecen una clara idea de lo que debe esperarse en serología en cada una de estas edades o grupos de edades y con ello observamos una **curva clásica en forma de "U" mayúscula**.

Sin embargo, una vez que contemos con datos representativos para cada grupo de edades no es necesario obtener muestras para serología en cada semana de vida.

**Al final del análisis, los únicos datos útiles son aquellos generados al día de edad y a la edad de comercialización o procesamiento.**

Estos datos representan los títulos de anticuerpos maternos al nacimiento, y los títulos de anticuerpos generados ante las vacunaciones y/o la exposición de campo.

Con estos datos podremos estimar el nivel de protección pasiva al momento del nacimiento y los niveles de anticuerpos que representan el resultado de las vacunaciones de exposición a agentes infecciosos en el campo.

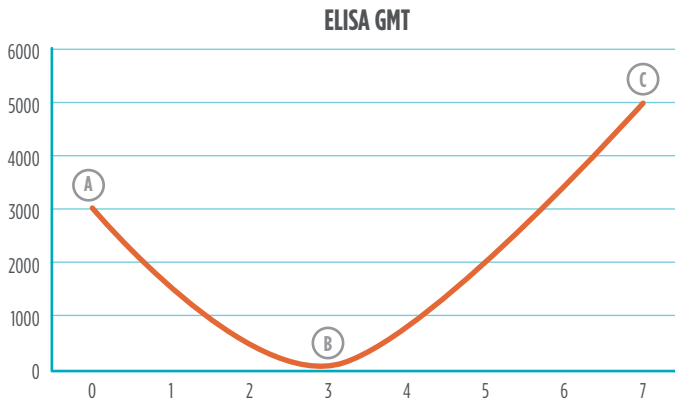
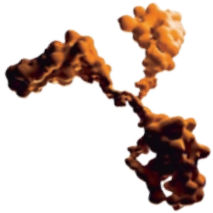


Figura 1. Anticuerpos maternos y edad del pollito



La línea ilustrada en la **Figura 1** comienza con un cierto nivel de **anticuerpos maternos (A)** que desaparecen hacia la **tercera semana de vida (B)**, antes de volver a incrementarse y alcanzar un cierto nivel a la **edad de procesamiento (C)** como resultado de la combinación de vacunaciones de exposición de campo.

La misma tendencia se observa para cualquiera de las enfermedades comunes que afectan a los pollos de engorde y que son capaces de inducir una **respuesta inmune humoral** a través de la producción de anticuerpos circulantes.



En países o empresas que utilizan vacunas inactivadas en pollos de engorde la inflexión de esta curva puede ser distinta.

*Dada la facilidad de predecir el comportamiento de esta curva no es necesaria la serología semanal por edades.*

### Títulos y CVs para Bronquitis Infecciosa por edad

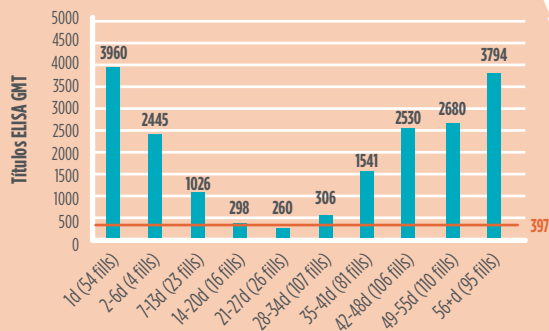


Figura 2. Títulos de anticuerpos contra bronquitis infecciosa

### Títulos y CVs para Gumboro por edad

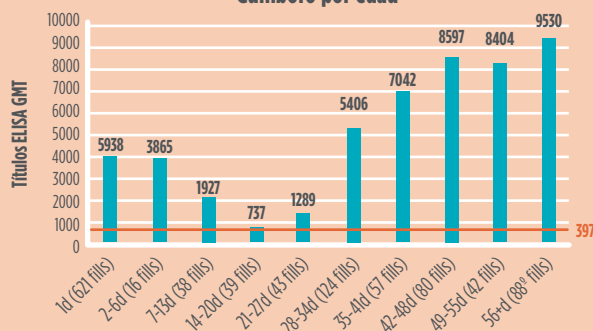
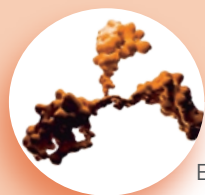


Figura 3. Títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Gumboro



Dos ejemplos excelentes de esta curva en forma de V están representados por los **títulos de anticuerpos contra la bronquitis infecciosa y contra la infección de la bolsa de Fabricio** en Georgia para los años 2013 a 2015 (*Figuras 2 y 3*).



Las reproductoras son sometidas generalmente a un **programa de vacunación** bastante más complejo, pero dentro de una región determinada mostrarán una línea base típica a lo largo del tiempo.

No es necesario tomar muestras de las reproductoras cada cinco a 10 semanas como hacen muchas empresas pero si esto se hiciera notaríamos que la curva base muestra niveles de anticuerpos que declinan con el tiempo desde el día de edad hacia las tres semanas de vida como ocurre en los pollos de engorde y como resultado del catabolismo de anticuerpos maternos.

Esta declinación va seguida de una **nueva producción de anticuerpos en forma activa** a partir de las tres semanas de edad y durante toda la etapa de crecimiento.

Para el momento en que las reproductoras ya han recibido dos vacunas inactivadas se observa comúnmente que la respuesta de anticuerpos se incrementa de manera notable para alcanzar un pico máximo de títulos de anticuerpos aproximadamente seis semanas después de la segunda aplicación de vacuna inactivada.

Este **pico de anticuerpos** va seguido del sostenimiento de los títulos por un tiempo antes de una declinación gradual conforme el lote de reproductoras avanza en edad dependiendo de las vacunas utilizadas y del nivel de desafío en el campo.



Este comportamiento es típico de empresas que utilizan **dos vacunas inactivadas**, generalmente hacia las **12 y 18 semanas de edad**.

12 - 18 semanas

Puede observarse en la **Figura 4** que los anticuerpos maternos (A) desaparecen hacia la tercera o cuarta semana de edad (B), para después mostrar una respuesta moderada ante múltiples vacunaciones a virus activo C, y una respuesta muy robusta después de la primera vacuna activada (D), seguida de otro incremento después de la segunda vacuna inactivada.

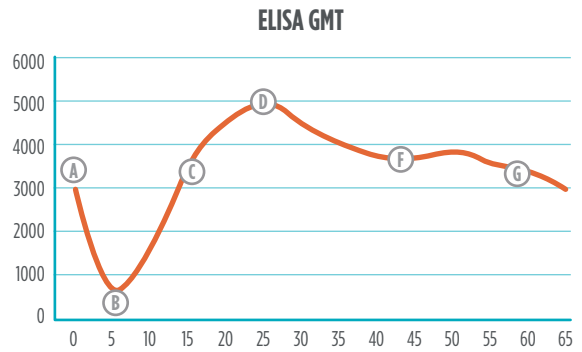


Figura 4. Anticuerpos maternos y edad de los pollitos

Los títulos de anticuerpos se mantienen estables o declinan gradualmente hasta que las gallinas completen su ciclo productivo (F, G) a las 60 o 65 semanas de edad.

Un muy buen ejemplo de líneas base en reproductoras que ilustran este efecto está representado por la línea base para reovirus en el estado de Georgia durante los años 2013 a 2015 (**Figura 5**).

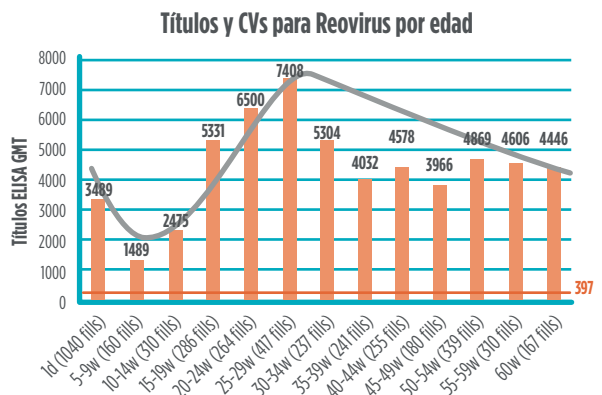


Figura 5. Títulos y CVs para Reovirus por edad



## Títulos y CVs Para Bronquitis por edad

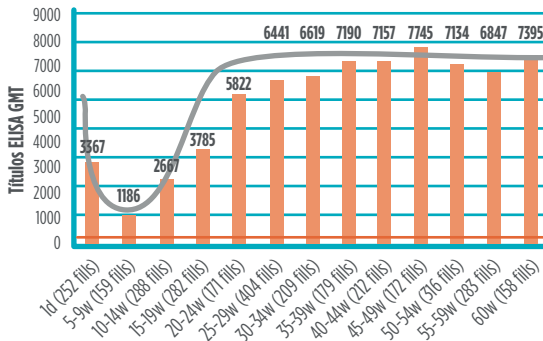


Figura 6. Títulos contra bronquitis infecciosa en una empresa o industria que utiliza vacunas inactivadas contra bronquitis infecciosa

Para enfermedades contra las cuales a veces no se utilizan vacunas inactivadas pero para las que puede haber un desafío de campo constante como es el caso de **bronquitis infecciosa** (no todas las empresas vacunan a sus reproductoras con vacunas inactivas contra bronquitis infecciosa), la curva puede no mostrar un título alto y sostenido de anticuerpos sino que puede mostrar altibajos debido a la circulación constante de virus en el campo (Figura 6).

En la **Figura 6** se muestran títulos contra bronquitis infecciosa en una empresa o industria que no utiliza vacunas inactivadas contra bronquitis infecciosa.

Nótese que no hay realmente un pico máximo de anticuerpos alcanzado hacia las 24 semanas de edad como ocurriría ante la vacunación con vacunas inactivadas.

Por el contrario, los títulos continúan ascendiendo y mostrando altibajos a diferentes edades hasta que las reproductoras completan su ciclo de producción

Si tuviéramos que elegir una **edad clave**, la edad más importante para el muestreo de reproductoras sería cuando se espera el título máximo de anticuerpos; es decir, **hacia las 24 semanas de edad**.

Esta edad representa el momento en el que debe esperarse la máxima respuesta a las vacunaciones administradas en las reproductoras.

La respuesta derivada de la primera vacunación inactivada ocurre después de las 12 semanas de edad y es realmente detectable hacia aproximadamente las 15-16 semanas de edad, pero esta respuesta es de menor importancia para la interpretación de resultados.

Sin embargo, a esta edad es importante intentar la detección de anticuerpos contra enfermedades como **encéfalomiélitis** y **anemia infecciosa** con el objetivo de asegurarse que las aves han seroconvertido contra estos dos agentes antes de iniciar la producción de huevo para fines de incubación.

La tercera edad de importancia es hacia las **45 semanas de edad** pues esto nos indica el nivel de anticuerpos disponible para transferencia hacia la progenie, además de que nos puede revelar si las reproductoras están siendo desafiadas en el campo contra cualesquiera de los agentes para los cuales se han hecho las pruebas serológicas.

También pueden incorporarse al programa de muestreo otras edades, incluyendo:

**El día de edad para buscar niveles de anticuerpos maternos**

**A las 10 semanas para estimar la respuesta a las vacunas activas**

**A las 65 semanas para estimar los niveles de anticuerpos al final del ciclo productivo**



**Estas otras edades tienen menor valor para la toma de decisiones**

## Cómo utilizar las líneas base

En el GPLN se publican cada año líneas base actualizadas que resumen datos de los últimos 24 meses para cada enfermedad y para la industria local.

**El informe completo (disponible en [www.gapoultrylab.org](http://www.gapoultrylab.org)) contiene una sección para reproductoras y otra para pollos de engorde.**



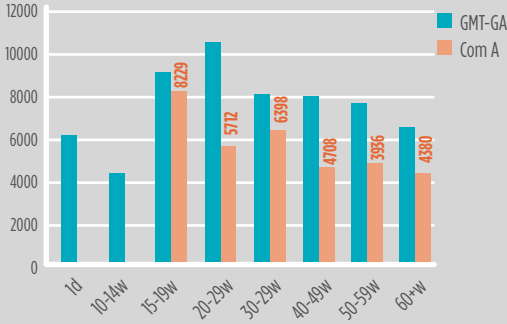
Después de conjuntar los datos serológicos de toda la industria y de eliminar aquellos que aparenten no ser representativos, **los datos serológicos son ordenados por rango de edad y por tipo de ave.**

El título geométrico y el coeficiente de variación de todas las parvadas que conformen un cierto rango de edad son agrupados y graficados para ser finalmente analizados.

Así, las empresas pueden no solamente comparar sus propios resultados con los de otras empresas en forma anónima, sino que también pueden analizar sus propios datos con base en rangos de edad específicos, granjas específicas, o grupos de lotes de aves en un periodo de tiempo específico para cada una de las pruebas ELISA.

Dado que cada empresa tiene acceso a sus propios datos serológicos y que pueden descargarlos en su propio sistema de informática, hemos notado que **muchas empresas** en realidad sí **utilizan sus datos serológicos, los analizan, los grafican y toman decisiones con base en su serología.**

## Ejemplos de aplicaciones



**Figura 7.** Títulos de anticuerpos contra IBF para una empresa (Com A) comparados con el promedio de la industria (GMT GA)

En el ejemplo de la **Figura 7** la empresa en cuestión observó anticuerpos contra IBF por debajo del promedio de la industria.

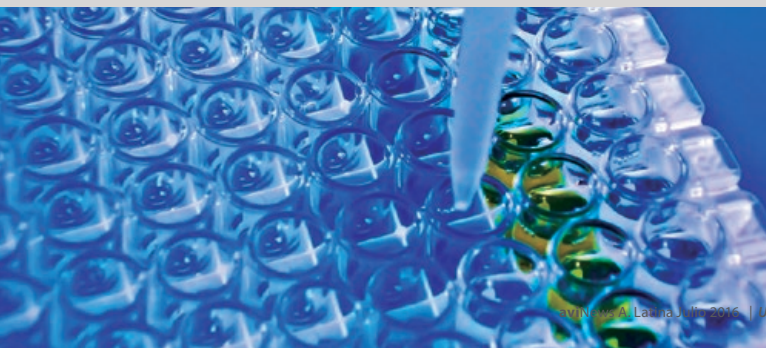
Después de haber hecho un cambio en las vacunas los títulos mejoraron sustancialmente e incluso fueron superiores al promedio de la industria en Georgia (**Figura 8**).

### TÍTULOS DE ANTICUERPOS CONTRA INFECCIÓN DE LA BOLSA DE FABRICIO DESPUÉS DE UN CAMBIO DE VACUNAS

Si la línea base para una empresa en 34 semanas de edad es o era 9000 (GMT) con un **coeficiente de variación (CV)** de 30, y se hace un cambio en las vacunas (tipo de vacuna, productor de vacuna, combinación de la vacunas, cambio en la vía de administración, cambio en la dosificación, etc.), y de pronto se nota que ha habido un cambio en los títulos de anticuerpos y que ahora los títulos son de 5.000 a 6.000 sin que cambie ningún otro parámetro, la empresa puede fácilmente reconocer que el cambio no ha sido positivo.



**Figura 8.** En color verde se observan los títulos de anticuerpos para la misma empresa representada en la figura 7 pero después de haber incorporado cambios que dieron como resultado una mejora sustancial en los títulos de anticuerpos contra IBF



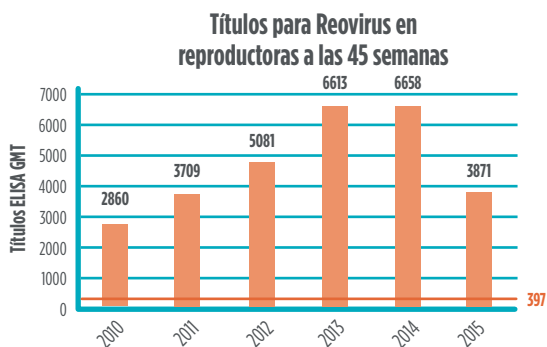
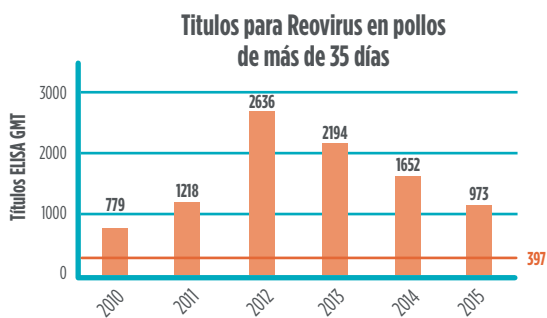
Otra manera interesante de utilizar los datos es mediante el análisis de las tendencias cronológicas.

**Los problemas de reovirus que se han manifestado en muchos países durante los últimos años (2012-2014) son muy evidentes si se analizan los datos de la línea base en reproductoras y pollos de engorde.**

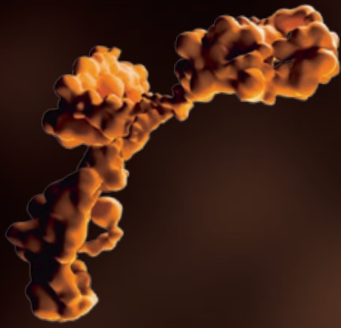
*El problema generó un incremento sustancial en los títulos de anticuerpos debido al desafío de campo en pollos de engorde; y títulos de anticuerpos más altos en reproductoras debido a la incorporación de programas de vacunación más agresivos, como puede observarse en las figuras 9 y 10.*

En la **Figura 9** se observa un incremento en los títulos de anticuerpos contra reovirus a edad de comercialización en pollos de engorde, lo que refleja que estas aves fueron desafiadas en el campo.

Después del año 2012 hay una disminución de los títulos de anticuerpos hasta llegar a niveles relativamente normales en el año 2015, reflejándose el control efectivo de los problemas de reovirus en pollos de engorde, sin que haya evidencia serológica de infección en el año 2015.

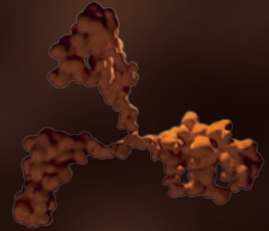


En la **Figura 10** puede observarse que los títulos de anticuerpos en la reproductoras se han mantenido hasta hoy puesto que muchos lotes de reproductoras han sido vacunados agresivamente contra reovirus para solucionar el problema y se continúa con estos programas de inmunización hoy en día para prevenir estos problemas en el futuro.



Las líneas base tienen muchos diferentes usos y son sumamente útiles para las empresas avícolas y para los gerentes de producción. Estas líneas base permiten analizar tendencias de cada empresa y de la industria en lugar de intentar hacer sentido de pilas de papeles de resultados serológicos para lotes individuales.

Analizando los datos serológicos con la ayuda de sistemas de informática electrónicos es mucho más fácil entender las tendencias en sanidad avícola para cada empresa o para la industria en general.



Finalmente, aunque el laboratorio juega un papel central en la generación de bancos de datos y contribuye al análisis de estos datos, es realmente responsabilidad de los gerentes de producción o de sanidad el encontrar la mejor fórmula de utilización y aplicación de estas líneas base de acuerdo a sus propias circunstancias.

