



Universidad
Nacional
de Loja

Facultad
Agropecuaria y de Recursos
Naturales Renovables

Carrera de
Medicina
Veterinaria y
Zootecnia

TESIS DE GRADO

“DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LA PREVALENCIA DEL VIRUS DE NEWCASTLE EN AVES DE TRASPATIO EN LA PARROQUIA TUNDAYME DEL CANTÓN EL PANGUI, PROVINCIA DE ZAMORA CHINCHIPE”

Trabajo de tesis previo a la obtención del título de
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

AUTOR

Luis Efrén Guamán Paqui

DIRECTOR

Dr. Galo Vinicio Escudero Sánchez Mg.

LOJA - ECUADOR

2021

No todos ocupan los
mejores puestos, sino
los más preparados,
aunque no sean genios.



CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

Dr. Galo Vinicio Escudero Sánchez, Mg.Sc

DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICA

Que he revisado la presente tesis titulada **“DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LA PREVALENCIA DEL VIRUS DE NEWCASTLE EN AVES DE TRASPATIO EN LA PARROQUIA TUNDAYME DEL CANTÓN EL PANGUI, PROVINCIA DE ZAMORA CHINCHIPE”** realizado por el Sr. Egresado Luis Efrén Guamán Paqui, la misma que **CULMINÓ DENTRO DEL CRONOGRAMA APROBADO**, cumpliendo con todos los lineamientos exigidos por la reglamentación de la Universidad Nacional de Loja, por lo cual, **AUTORIZO QUE SE CONTINÚE CON EL TRÁMITE DE GRADUACIÓN.**

Loja, 26 agosto 2020

Atentamente

GALO VINICIO ESCUDERO SANCHEZ
Firmado digitalmente por GALO VINICIO ESCUDERO SANCHEZ
Fecha: 2020.08.31 07:32:29 -05'00'

Dr. Galo Vinicio Escudero Sánchez, Mg. Sc

Director de Tesis

CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Loja, 31 de marzo del 2021

En calidad de Tribunal Calificador de la Tesis de Grado titulada: **“DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LA PREVALENCIA DEL VIRUS DE NEWCASTLE EN AVES DE TRASPATIO EN LA PARROQUIA TUNDAYME DEL CANTÓN EL PANGUI, PROVINCIA DE ZAMORA CHINCHIPE”**, de la autoría del Sr. **LUIS EFRÉN GUAMÁN PAQUI**, egresado de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional de Loja, **CERTIFICAN** que ha incorporado todas las sugerencias efectuadas por sus miembros, por tal motivo se procede aprobar y calificar su trabajo de Tesis de Grado.

Por lo tanto, autorizamos al señor egresado, su publicación y difusión.

Atentamente:

Dr. Segundo Germán Barragán Fierro, Mg. Sc
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



MVZ. Roberto Claudio Bustillos Huilca, Mg. Sc
VOCAL DEL TRIBUNAL



MVZ. Jhuliana Katherine Luna Herrera, Mg. Sc
VOCAL DEL TRIBUNAL



AUTORÍA

Yo, **Luis Efrén Guamán Paqui** declaro ser autor del presente trabajo de tesis que ha sido desarrollado con base a una investigación exhaustiva y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma; los conceptos, ideas, resultados, conclusiones, y recomendaciones vertidos en el desarrollo del presente trabajo de investigación, son de absoluta responsabilidad de su autor.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

FIRMA:



Firmado electrónicamente por:

**LUIS EFREN
GUAMAN**

AUTOR: Luis Efrén Guamán Paqui

CÉDULA: 1900709104

FECHA: Loja, 07 de abril del 2021

CARTA DE AUTORIZACIÓN

Yo, **Luis Efrén Guamán Paqui**, declaro ser el autor de la tesis titulada “**DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LA PREVALENCIA DEL VIRUS DE NEWCASTLE EN AVES DE TRASPATIO EN LA PARROQUIA TUNDAYME DEL CANTÓN EL PANGUI, PROVINCIA DE ZAMORA CHINCHIPE**”, como requisito para optar al grado de Médico Veterinario Zootecnista, autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos, muestre al mundo la reproducción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera, en el Repositorio Digital Institucional (RDI): Las personas puedan consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las redes de Información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad. La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero, con fines académicos. Para constancia de esta autorización, firmo en la ciudad de Loja, a los 8 días del abril de 2021.

FIRMA:



Firmado electrónicamente por:

**LUIS EFREN
GUAMAN**

Autor: Luis Efrén Guamán Paqui

Cédula de identidad: 1900709104

Dirección: Loja, barrio Cuarto Centenario

Correo electrónico: leguamanp@unl.edu.ec

Teléfono: 0988857380

DATOS COMPLEMENTARIOS

Director de tesis:

Dr. Galo Vinicio Escudero Sánchez Mg. SC

Tribunal de grado:

Dr. Segundo Germán Barragán Fierro, Mg. Sc. (Presidente)

MVZ. Roberto Claudio Bustillos Huilca, Mg. Sc. (Vocal)

MVZ. Jhuliana Katherine Luna Herrera, Mg. Sc. (Vocal)

AGRADECIMIENTO

Me gustaría expresar en estas líneas mis más profundos y sinceros agradecimientos a todas aquellas personas que con su ayuda colaboraron en la realización del presente trabajo.

De manera especial al Dr. Galo Vinicio Escudero Sánchez Mg. Sc. director de esta investigación y por la confianza, la orientación, el seguimiento y la supervisión continúa de la misma, pero sobre todo por la motivación y el apoyo recibido.

También quiero dar las gracias a la Universidad Nacional de Loja, y al Centro de Biotecnología por brindar el apoyo para poder terminar con el trabajo investigativo. También a la Empresa minera ECSA por el financiamiento.

Finalmente, mi agradecimiento profundo y sincero a mis padres y hermanos que con su apoyo incondicional hacen que pueda cumplir con éxito mis estudios y en general a mi familia y a todos y cada uno de mis amigos y compañeros que han sido el pilar fundamental para llevar adelante el desarrollo del presente trabajo investigativo.

Luis Efrén Guamán Paqui

DEDICATORIA

Primero agradezco al Ser supremo por derramar toda su bendición y guiar mi camino y llenarme de fuerza y sabiduría en este proceso.

A mis amados padres Francisco y Carmelina que son el soporte fundamental de mi vida y gracias a todo su apoyo, paciencia y sus sabios consejos brindados me han ayudado en mi educación, y así formarme y ser una mejor persona en la vida a mis hermanos Laura, Miriam y Segundo por la confianza, apoyo y aliento brindado para seguir adelante.

A mis amig@s Dayanna, Alex que compartieron este gran proceso brindándome su amistad y colaboraron de manera más idónea para llegar a esta meta esperada.

Luis Efrén Guamán Paqui

ÍNDICE GENERAL

PORTADA.....	I
CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS.....	II
CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO.....	III
AUTORÍA.....	IV
CARTA DE AUTORIZACIÓN.....	V
AGRADECIMIENTO.....	VI
DEDICATORIA	VII
ÍNDICE GENERAL.....	VIII
ÍNDICE DE TABLAS.....	XI
ÍNDICE DE FIGURAS	XII
TITULO	XIII
RESUMEN.....	XIV
SUMMARY	XV
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	2
2.1.1. Importancia Económica.....	2
2.1.4. Etiología.....	3
2.1.5. Clasificación del Virus de Newcastle.....	4
2.1.6. Morfología y Estructura del Virus de Newcastle	4
2.1.7. Multiplicación del Virus	6
2.1.8. Patogenicidad.....	7
2.1.9. Periodo de Incubación.	8
2.1.10. Transmisión.....	8

2.1.11.	Signos Clínicos	8
2.1.12.	Hallazgos Anatomopatológicos	9
2.1.13.	Diagnóstico Serológico	9
2.1.14.	Diagnóstico diferencial.	12
2.1.15.	Tratamiento.	13
2.1.16.	Prevención y control	13
2.1.17.	Programa de Vacunación	14
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	15
3.1.	Ubicación	15
3.1.2.	Tipo de Muestreo y tamaño de muestra	16
3.1.3.	Diagnóstico de Newcastle y Determinación de Factores de Riesgo	16
3.1.5.	Caracterización los Sistemas de Explotación de las Aves de Traspatio en el Sector de Tundayme	19
4.	RESULTADOS	20
4.1.	PREVALENCIA DE NEWCASTLE	20
4.2.	FACTORES ASOCIADOS A NEWCASTLE EN AVES DE TRASPATIO DE LA PARROQUIA TUNDAYME	20
4.3.	CARACTERIZACIÓN DE LOS SISTEMAS DE EXPLOTACIÓN DE LAS AVES DE TRASPATIO	22
4.3.1.	Características y Bioseguridad de los Sistemas de Explotación de las Aves de Traspatio	22
5.	DISCUSIÓN	24
5.1.	Seroprevalencia.....	24
5.2.	Factores de riesgo.	25

5.3.	Caracterización de los sistemas de explotación en aves de traspatio.....	25
6.	CONCLUSIONES	27
7.	RECOMENDACIONES	28
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	29
9.	ANEXOS.....	34
9.1.	Encuesta	37

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación de las cepas de virus de Newcastle con sus características patológicas.	4
Tabla 2 Plan de Vacunación para aves.....	14
Tabla 3. Seroprevalencia de Newcastle en diferentes especies de aves de traspatio de la provincia de Zamora Chinchipe cantón el Pangui parroquia Tundayme.....	20
Tabla 4. Factores asociados a la presencia de Newcastle en la Parroquia Tundayme, análisis de variable.....	21
Tabla 5. Análisis de variable politómicas asociadas a la prevalencia del virus de Newcastle	21

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de replicación del Virus	6
Figura 2 Mapa de la Parroquia Tundayme.....	15
Figura 3 Reunión con los moradores	34
Figura 4 Aves de Traspatio	34
Figura 5 Materiales de Trabajo	34
Figura 6 Centrifugación de las Muestras a 3000 rpm durante 5 min.....	34
Figura 7 Transporte de las Muestras	35
Figura 8 Preparación de Muestras.....	35
Figura 9 Lavado de pocillos.....	35
Figura 10 Kit IDvet para Newcastle.....	35
Figura 11 Placa de ELISA indirecto	36
Figura 12 Densidades ópticas de una de las placas de ELISA indirecto obtenidas por lectura en espectrofotómetro.....	36

**“DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LA PREVALENCIA DEL VIRUS DE
NEWCASTLE EN AVES DE TRASPATIO EN LA PARROQUIA TUNDAYME DEL
CANTÓN EL PANGUI, PROVINCIA DE ZAMORA CHINCHIPE”**

RESUMEN

Se realizó un estudio de tipo prospectivo, de corte transversal, para determinar la seroprevalencia del virus de Newcastle en aves de traspatio de la parroquia Tundayme, de la provincia de Zamora Chinchipe. Se obtuvo 148 muestras de sangre por punción alar de aves adultas sin historial de vacunación contra la enfermedad de Newcastle. Se aplicó una encuesta epidemiológica en cada una de las propiedades, para evaluar las normas de bioseguridad y recoger información acerca de las siguientes variables: procedencia (parroquia y barrios), tipo de aves tipos de manejo y caracterización de los sistemas de explotación. Las muestras de suero, fueron sometidas a análisis mediante ELISA indirecto para la detección de anticuerpos IgG contra el virus de Newcastle, la seroprevalencia fue 18,92% (28/148), las variables: presencia de otras especies, origen de las aves, presencia de filtros sanitarios y práctica cambio de vestimenta no están asociadas a la presencia del virus de Newcastle; sin embargo, el riesgo disminuye en patos con respecto a las gallinas. Así mismo la variable procedencia y manejo no se considera estadísticamente asociada ($p > 0,05$). En los predios incluidos en el estudio existen malas prácticas de bioseguridad, conviven en las mismas instalaciones aves de diferentes especies y edades. El sistema de manejo corresponde al tradicional en donde los animales se mantienen en condiciones de pastoreo, la alimentación se basa principalmente en concentrado, sobras de alimentos y maíz, así mismo, los animales no cuentan con asistencia técnica veterinaria. Es necesario fortalecer la crianza de aves de traspatio estableciendo planes de vacunación, la vigilancia epidemiológica, capacitación constante, sobre manejo, así como medidas sanitarias especialmente de Newcastle, enfermedad que diezma las poblaciones de aves de traspatio de las zonas rurales, poniendo en riesgo la seguridad alimentaria de los campesinos de la zona.

Palabras claves: seroprevalencia. Newcastle, traspatio, ELISA

SUMMARY

A prospective, cross-sectional study was carried out to determine the seroprevalence of Newcastle virus in backyard birds from Tundayme parish, in the province of Zamora Chinchipe. 148 blood samples were obtained by wing puncture from adult birds with no history of vaccination against Newcastle disease. An epidemiological survey was applied in each one of the properties, to evaluate the biosecurity norms and collect information about the following variables: origin (parish and neighborhoods), type of birds, types of management and characterization of the exploitation systems. The serum samples were subjected to analysis by indirect ELISA for the detection of IgG antibodies against Newcastle virus, the seroprevalence was 18.92% (28/148), the variable: presence of other species, origin of the birds, the presence of sanitary filters and the practical change of clothing is not associated with the presence of the Newcastle virus; the risk decreases in ducks compared to however. Likewise, the source and management variable is not considered statistically associated, p is greater than 0.05. The farms included in the study have bad biosecurity practices, birds of different species and ages coexist in the same facilities. The management system corresponds to the traditional one where the animals are kept in grazing conditions, the feeding is based mainly on concentrate, food leftovers and corn, likewise, the animals do not have veterinary technical assistance. It is necessary to strengthen the breeding of backyard birds by establishing vaccination plans, epidemiological surveillance, constant training, on management, as well as sanitary measures especially Newcastle disease that decimates the populations of backyard birds in rural areas, putting safety at risk food of the peasants of the area.

Keywords: seroprevalence. Newcastle, backyard, ELISA.

1. INTRODUCCIÓN

La producción de aves a campo o de traspatio representa una pequeña proporción del total de la producción de aves que se consumen en el Ecuador, sin embargo toma importancia en la región Amazónica y más aún en el cantón El Pangui, en donde la producción de este tipo de aves representa aproximadamente el 95% de toda producción avícola; mientras que la explotación de aves comerciales es el 5% (Yauhar, Basso, Lotti, Otaño, & Naso, 2013). Este crecimiento sostenido y poco organizado, genera problemas sanitarios de enfermedades de diferente índole que afecta la producción, siendo la enfermedad de Newcastle un potencial problema, para la industria comercial y para la explotación de aves de traspatio; los vectores más frecuentes, son las aves de traspatio y las aves silvestres ya que como portadoras asintomáticas pueden propagar el virus con pérdidas económicas incalculables para la explotación comercial (Escudero, Yaguana, Herrera, & Herrera., 2016).

Newcastle es una de las enfermedades de mucha importancia que afecta al sector avícola del sur del Ecuador, está causada por la diseminación del virus que es uno de los patógenos de mayor importancia social y económica en la industria avícola (Armijos, 2014). La enfermedad de Newcastle es una de las enfermedades más costosas que enfrenta la industria avícola, no solo por sus efectos devastadores en la sanidad y productividad de los lotes, en el caso de un brote, sino por los costos inherentes a la acción de control (Vera, 2019)

Por los antecedentes es necesario generar información, **para determinar la prevalencia** del virus de la enfermedad de Newcastle en aves de traspatio para lo cual se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- Diagnosticar mediante ELISA indirecto la presencia del virus de la enfermedad de Newcastle en aves de traspatio en la parroquia Tundayme, cantón El Pangui, provincia de Zamora Chinchipe.
- Determinar los factores asociados a la prevalencia del virus de Newcastle en la Parroquia Tundayme del cantón El Pangui, provincia de Zamora Chinchipe.
- Caracterizar los sistemas de explotación de las aves de traspatio en el sector de Tundayme.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ENFERMEDAD DE NEWCASTLE

La enfermedad de Newcastle (ENC) es conocida como la enfermedad más importante en aves con alto potencial patógeno, responsable de repercusiones económicas y restricciones de comercio en todo los países del mundo donde se han producido brotes (Iglesias, Martínez, Torre, & Sanchez, 2008).

Es producida por una infección por cepas víricas de la familia Paramyxoviridae, subfamilia Paramyxovirinae, cuya patogenicidad varía desde alta velogénica, moderada mesogénica, hasta baja lentogénica (León & Chávez, 2019).

2.1.1. Importancia Económica

La enfermedad tiene un impacto significativo en áreas rurales donde las aves de traspatio proporcionan una importante fuente de nutrición de alta calidad y de ingresos para las familias que lo crían, de esta manera permite aliviar la pobreza en zonas de bajo recursos económicos. En el sector rural las familias tiene las aves como un ingreso económico rápido permitiendo tener el sustento diario de las familias (Sialer, 2017).

2.1.2. Historia

La enfermedad de Newcastle (ENC) aparece por primera vez en 1926 en dos lugares del mundo en Inglaterra y en la Isla de Java. El primer brote compatible con la enfermedad fue reconocido como brote morbosos diferentes que afectan las aves y por ello se denominó enfermedad de Newcastle en 1926, en este mismo año se reportó brotes similares en Europa Central. En el año de 1930, una enfermedad respiratoria suave con presencia de síntomas nerviosas fue reportado en Estados Unidos lo denominaron como neumoencefalitis donde estudios serológico demostraron que era un virus indistinguible de Newcastle (Sialer, 2017).

El nombre de Newcastle lo acuñó Doyle como una medida temporal, de esta manera permitió evitar la confusión con otras enfermedades (Arenas, 2003) Según Cuello et al., (2011), menciona que en la actualidad la enfermedad se mantiene controlada, pero de forma enzoótica en esta especie, se ha presentado numerosos brotes de la enfermedad en diversos países del mundo esto

constituye elementos suficientes para que se considere la cuarta panzootia de Newcastle, la cual causó pérdidas económicas en muchos países del mundo.

2.1.3. Epidemiología

La enfermedad de Newcastle (ENC) es de distribución universal en las aves domésticas y silvestres, pero solo es reportado a la autoridad sanitaria competente en aves domésticas. Siendo las especies más susceptibles a la enfermedad de Newcastle las aves de corral en particular los pollos. Las aves más resistentes a esta enfermedad son pavos, patos y gansos. La distribución actual del virus depende de tratar de erradicar o controlar, el éxito dependerá de la naturaleza de la industria avícola, países que en su mayoría la crianza es traspatio tiene más desventaja en comparación con la crianza industrializada (Ortiz, 2016). Según Vera (2019) y Arias & Lomas (2013) mencionan, que los patos, gansos presentan generalmente infecciones inaparentes. Las aves mascotas, en especial los pericos, pueden distribuir el virus por más de un año sin mostrar ningún síntoma. Salazar et al., (2017) señalan que la epidemiología del virus de la enfermedad de Newcastle esta comprendida de forma incompleta, todas las aves son susceptibles a la infección, aunque el grado de la enfermedad varia de una especie a otra. Siendo las aves acuáticas las mas resistentes, y posibles reservorios de virus lentogénicas, que podrían volverse mas virulentos despues de establecer en aves de corral.

La enfermedad de Newcastle está inscrita en la lista del código sanitario para los animales terrestres, 2009 de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) y es de declaración obligatoria (Araujo, 2011).

Según Araujo (2011), menciona, este tipo de enfermedad preocupa a los Médicos Veterinarios de campo, la industria avícola y las autoridades sanitarias del país. El Instituto Nacional de Salud Agrícola (INSAI) describe a esta enfermedad denuncia obligatoria, de esta manera se exigiendo la notificación inmediata, para que se tomé las medidas correspondientes. Ortiz (2016) menciona que distintos investigadores de África, Asia, Centro América y partes de Sudamérica, determina que la enfermedad de Newcastle es enzoótico o causa regular de epizootias.

2.1.4. Etiología

La enfermedad de Newcastle (ENC) es producida por cepas de *Paramixovirus* tipo 1 (PVM-1), son virus ARN monocatenario de sentido negativo no segmentado, pertenece al orden

Mononegavirales, del Género: *Avulavirus*. Es una de las enfermedades aviar más importantes a nivel mundial, causando pérdidas económicas en todo los países del mundo (Ortiz, 2016).

2.1.5. Clasificación del Virus de Newcastle

La clasificación de las cepas se da siguiendo los criterios de comportamiento en las pruebas de tiempo promedio en que mata un pollo, índice de patogenicidad intracraneal (IPIC) en pollos de un día y el índice de patogenicidad intravenosa (IPIV) en pollitos de 6 semanas de edad (Ortiz, 2016).

Según Medicine (2008), menciona, que las cepas APMV-1 se clasifican en tres grupos basados en su virulencia en pollo.

Tabla 1 Clasificación de las cepas de virus de Newcastle con sus características patológicas.

CEPAS	CARACTERÍSTICAS
Lentogénicas o asintomáticos	Producen muy pocas o ninguna lesión a nivel respiratorio
Mesogénicas	Producen baja mortalidad en aves domésticas, se presentan con signos respiratorios y nerviosos ocasionales. Estas cepas fueron utilizadas como cepas vacúnales, entre ellas encontramos las cepas; Roakin, Komarov, Meekteswar y H
Velogénicas	Velogénica viscerotrópica: produce lesiones intestinales hemorrágicas Velogénica neurotrópica : presentan signos nerviosos, respiratorios causando alta tasa de mortalidad.

Fuente: (Ortiz, 2016)

2.1.6. Morfología y Estructura del Virus de Newcastle

El Virus de Newcastle mediante la microscopía electrónica, ha revelado una gran variedad de partículas pleomórficas, la cuales se encuentran adoptando distintas formas en determinadas circunstancias. La superficie de la partícula de virus está cubierta con proyecciones de 8 nm de longitud; la nucleocápside se encuentra a unos 18 nm de diámetro y mostrando simetría helicoidal (Vargas, 2014).

El virus de Newcastle codifica seis proteínas estructurales son las siguientes: Nucleoproteína (N) o (NP), Fosfoproteína (P), Matriz (M), Fusión (F), Hemaglutinina neuraminidasa (HN) y ARN polimerasa (L) y dos no estructurales como la W y V que son modificadas transcripcional de ARN que codifica para una proteína estructural. A continuación, se describe las proteínas estructurales: La proteína (M): regula la síntesis de ARN viral, ayuda al anclaje del vibrión a la célula huésped y le da estabilidad a la estructura del virus forma un vínculo entre las glicoproteínas. Fosfoproteína (P): tiene un papel importante en la replicación, transcripción y modulación de la replicación viral. También se ha sugerido que la proteína P que podría implementar para detectar anticuerpos contra Newcastle, esta proteína es la única que puede formar proteínas adicionales (no estructurales) que son la W y la V que tiene funciones importantes en cuanto al proceso de replicación del virus (Velásquez & Felipe, 2016).

Nucleoproteína (N) o (NP): esta proteína es esencial para iniciar la replicación del virus, tienen un papel importante en la virulencia individual de las cepas. La Proteína (F): es responsable de la fusión entre las membranas celulares y virales al momento de la penetración; es el principal determinante de la patogenicidad del virus de la enfermedad de Newcastle (Cuello, Vega, & Noda, 2011).

Hemaglutinina-neuraminidasa (HN): cumple funciones de la unión a receptores específicos de membrana de célula huésped, incluyendo los glóbulos rojos (Buendía, 2014).

ARN polimerasa (L): se encuentra en mayor cantidad en el genoma y modula la virulencia del virus, de allí desempeña un rol muy importante en la virulencia del virus (Velásquez & Felipe, 2016).

Las características genéticas del virus y su virulencia en aves, el virus de la enfermedad de Newcastle se puede clasificar en baja o alta patogenicidad; mediante la relación con la glicoproteína de fusión (F), también da inicio a la fusión del virus con la membrana plasmática de la célula en el huésped permitiendo así la multiplicación viral (Vargas, 2014).

2.1.7. Multiplicación del Virus

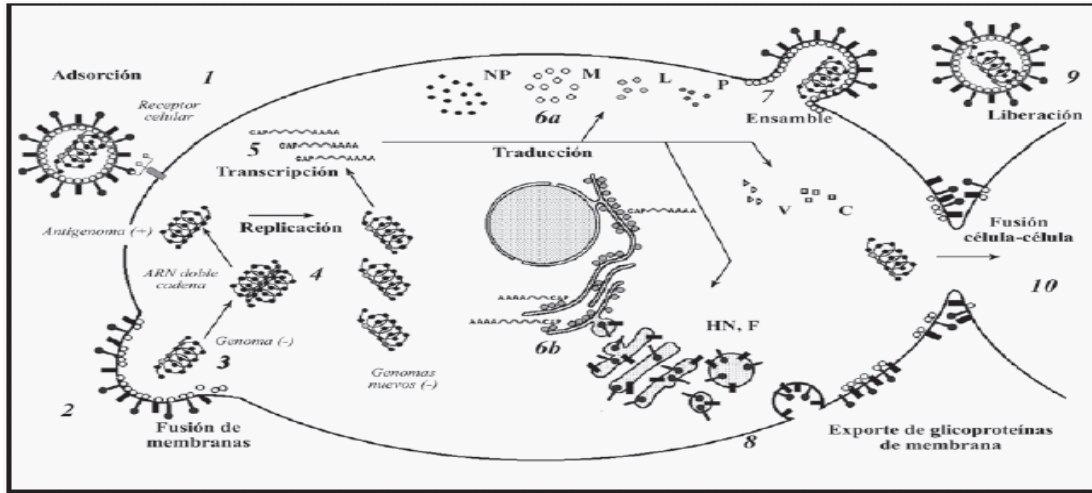


Figura 1. Ciclo de replicación del Virus (Cueva, 2017)

La replicación lo realiza totalmente en el citoplasma. Luego de la fusión del virus a la célula por medio de los receptores glicolípidicos, se da la unión de las membranas virales y celulares a pH fisiológico y la nucleocápsida penetra al interior de la célula, donde permanece intacta con sus tres proteínas asociadas. Seguidamente, se activa la ARN polimerasa produciendo varios ARN complementarios de polaridad positiva, que actúan como ARN mensajeros y utilizan los mecanismos celulares para la producción de proteínas virales. Al mismo tiempo, se sintetiza un ARN completo de polaridad positiva que sirve como molde para la replicación del genoma viral de polaridad negativa que se asocia con la nucleoproteína y la transcriptasa para formar la nucleocápsida (Cuello, Vega, & Noda, 2011). La maduración del virión involucra en primer lugar la incorporación en la membrana de la célula. Posteriormente, se ubica la nucleocápsida bajo la proteína M y ocurre la formación y liberación de los viriones maduros por exocitosis. Las cepas del virus se multiplican de mejor manera en huevos embrionados de gallinas y debido a esta propiedad y a los altos títulos virales que se alcanzan en ellos, son utilizados para el aislamiento y propagación del mismo, produciendo mortalidad en corto tiempo, lo cual tendrá su comportamiento en función de la vía de inoculación. El tiempo que demora un aislado en producir mortalidad en el embrión de pollo está relacionado con su patogenicidad para el pollo (Cuello, Vega, & Noda, 2011).

2.1.8. Patogenicidad

La patogenicidad de las cepas de la enfermedad de Newcastle (ENC) se modifica de acuerdo al hospedero. En los pollos la enfermedad causada por las diferentes cepas del virus puede variar desde muerte súbita con un 100% de mortalidad. La influencia de la especie hospedero en la infección viral puede ser también perceptible, por ejemplo, cepas de virus que provocan enfermedad severa en pollos y pavos pueden causar signos leves de enfermedad en patos y gansos (Cuello, Vega, & Noda, 2011).

El nivel de patogenicidad del virus puede medirse mediante un sistema recomendado por la OIE, consiste en un índice de patogenicidad intracerebral, el cual se mide en pollos de 1 día de edad donde se evalúa la capacidad del virus para generar signos, lesiones y mortalidad de aves. En general, las cepas velogénicas tienen un índice de 1'5 a 2'0, las mesogénicas de 1'0 a 1'5 y las lentogénicas como las cepas vacúnales valores menores de 0'7. El índice de patogenicidad intravenosa (IPIV), se evalúa en aves de 6 semanas de edad. Se inoculan 10 pollos a nivel de la vena braquial con 0.1 ml de líquido alantoideo y se observa cada 24 horas por 10 días y se registran los valores los cuales son: 0 = normal, 1 = enfermo, 2 = parálisis y 3 = muerto. Se suman los datos de cada pollito y se calcula el promedio. El valor máximo de esta prueba es de 3.0, esta prueba es de gran utilidad para diferenciar cepas mesogénicas de velogénicas. El índice de mortalidad embrionaria (IMME), es el tiempo que transcurre para que la dosis mortal mínima cause la muerte de embriones de pollos de 9 a 11 días de incubados. Se interpretará de la siguiente manera: cepas lentogénicas presentan un tiempo promedio de más de 90 horas, las cepas mesogénicas presentan un tiempo promedio entre 60 y 90 horas y las cepas velogénicas presentan un tiempo menor a 60 horas. En el procedimiento se inocula 0.1 ml de una dilución de 10⁻⁵ de líquido alantoideo de la cámara de aire y los embriones son observados en un tiempo máximo de 8 días. El índice intracloacal se realiza en aves libres de patógenos específicos, de 8 semanas de edad, es implementado para diferenciar las cepas velogénicas vicerotrópicas de las velogénicas neurotrópicas (Velásquez & Felipe, 2016).

2.1.9. Periodo de Incubación.

Según Linares (2013), menciona el periodo de incubación establecido por el Código terrestre de la OIE es de 21 días. La cuarentena es una estrategia sanitaria protectora que permite la diseminación de las enfermedades infecciosas, se debe realizar en animales vivos, productos, subproductos, vehículos y personas. (Velásquez & Felipe, 2016).

2.1.10. Transmisión

La transmisión del virus se realiza mediante la inhalación o ingestión (ruta fecal-oral). Las aves eliminan el virus en las heces y las secreciones respiratorias. Las gallináceas eliminan el virus por una o dos semanas. La eliminación prolongada se ha registrado en otras aves como búhos (más de 4 meses), cormoranes (1 mes) y psitácidas que pueden eliminar el virus por más de un año (Sialer, 2017). La Ruta de transmisión del virus de la ENC se da a través del contacto directo entre las aves o de manera indirecta a través de los bebederos, comederos u otros objetos contaminados con el virus (Fómites). La transmisión horizontal mediante los huevos fecundados es una probabilidad como fuente de infección (Ortiz, 2016).

Para tener una transmisión por vía aerógena depende de muchos factores, principalmente ambientales tales como: la temperatura, la humedad y la densidad de población. La transmisión aérea del virus podría ser reducida por el aumento artificial de la ionización negativa del aire. Cuando las condiciones climáticas son propicias la infección se puede transmitir mediante vía aerógena (Sialer, 2017).

2.1.11. Signos Clínicos

La presentación clínica de la ENC varía grandemente dependiendo de factores tales como: la cepa del virus, la salud, edad de las aves y especie al que hospeda (Sialer, 2017), la mayoría de las aves están letárgicas, inapetentes y las plumas pueden estar erizadas (Velásquez & Felipe, 2016). Algunas aves desarrollan diarrea acuosa, verde o blanca, algo muy característico de las cepas de alta virulencia el color de las heces es verde. Los signos respiratorios son: descarga ocular o nasal, cianosis, ruidos respiratorios anormales; en los signos nerviosos presenta torticollis, temblor muscular, parálisis de las alas. Generalmente en las lesiones provocadas por el virus de Newcastle se puede observar: lesiones hemorrágicas en el tracto respiratorio, proventrículo y cecitas cecales,

úlceras botonosas en mucosa, aerosaculitis y congestión en la tráquea; las aves muertas presentan contenido intestinal verde grisáceo y deshidratación marcada (Velásquez & Felipe, 2016).

2.1.12. Hallazgos Anatomopatológicos

Existe una variabilidad en las lesiones de los diferentes órganos de las aves infectadas con el virus ENC son dependientes de la cepa y prototipo del virus infectante, además del hospedero y de otros factores que pueden afectar la severidad de la enfermedad. No existen lesiones patognomónicas asociadas con ninguna de las formas de enfermedad la presencia y severidad de las lesiones están relacionadas con los diferentes factores de patogenicidad ya descritos (Sialer, 2017). Las hemorragias, úlceras, además a menudo se producen en las tonsilas cecales y tejidos linfáticos de la pared intestinal (incluyendo en la placa de Peyer); esta lesión es indicativa de la enfermedad de Newcastle. En las aves de postura los ovarios frecuentemente son edematosos o degenerativos y puede contener hemorragias (Medicine, 2008). Comúnmente se observa aerosaculitis, pero la infección con cepas no patogénicas puede también ocasionar aerosaculitis e incremento del grosor de los sacos aéreos. Se pueden observar alteraciones patológicas severas que incluyen hemorragia en la conjuntiva inferior, necrosis del bazo, y edema paratraqueal (Sialer, 2017).

2.1.13. Diagnóstico Serológico

El objetivo de la Enfermedad de Newcastle es poder llegar a diagnosticar de si es necesario o no tomar medidas de control para evitar la diseminación de la enfermedad. Ninguno de los signos clínicos o lesiones producidos por el virus son considerados patognomónicos y la amplia variación en las manifestaciones de la enfermedad solo sirven para sugerir que estamos en prevalencia de la misma. El diagnóstico es muy difícil de realizar aun presuntivamente, sobre todo cuando la enfermedad es producida por cepas de virus que sólo afectan al aparato respiratorio, sin producir lesiones nerviosas ni digestivas. El diagnóstico confirmativo de la enfermedad debe realizarse mediante la base del aislamiento y la identificación viral o con el empleo de las técnicas moleculares que permiten especificar y determinar la potencialidad de virulencia. Los resultados de estas pruebas serológicas por lo general están listos en dos días, a diferencia de los cultivos que pueden tardar entre tres y cinco días, incluso hasta varias semanas (Cuello, Vega, & Noda, 2011).

La serología es muy implementada en el control de Newcastle, ya que el diagnóstico serológico postvacunal es utilizado como monitoreo serológico para confirmar la aplicación exitosa de la vacuna y confirmar una adecuada respuesta inmune por el ave. Para que esta prueba sea confiable los sueros se deben remitir libres de impureza, hemolisis y lipemas. Se debe evitar la toma de muestra en aves deshidratadas ya que pueden alterar el resultado (Velásquez & Felipe, 2016). Las pruebas serológicas nos indicarán la presencia de anticuerpos, sin indicarnos la cepa involucrada. Estas pruebas son útiles para cuantificar anticuerpos posvacunación, para confirmar la aplicación de la vacuna y una adecuada respuesta inmune (Motta., 2002).

Para el diagnóstico de laboratorio se utilizan las pruebas serológicas, las cuales se emplean para detectar de forma cualitativa o cuantitativa la prevalencia de anticuerpos en sangre cuya producción es estimulada por cepas de campo o vacunales. De esta forma, la serología se considera como una de las opciones para el control de la enfermedad. Las pruebas serológicas utilizadas en la enfermedad de Newcastle son la inhibición de la hemoaglutinación (HI), ELISA, RT-PCR y PCR en Tiempo Real las cuales miden los títulos de anticuerpos contra los diferentes antígenos presentes en el virus (Vargas, 2014).

A. Prueba de ELISA

La prueba de ELISA (por sus siglas en inglés provenientes del acrónimo Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), es un ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas, en el cual un antígeno inmovilizado se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable como cambio de color. De esta forma con las pruebas de ELISA permite medir la concentración relativa de anticuerpos contra el virus de Newcastle. Para la realización de las pruebas, se da a través de una placa de 96 pozos recubierta de un antígeno de Newcastle; a la cual se le adiciona el suero problema de ave al cual se le quiere medir el nivel de anticuerpos; los anticuerpos del suero se unen al antígeno de la placa, formando un complejo denominado antígeno-anticuerpo (Ag-Ac), luego se realiza la adición del conjugado, este es un antisuero marcado que reconoce los anticuerpos del ave. Al suministrar un substrato enzimático se presenta una reacción del antisuero marcado, lo cual genera cambio de color; cuya intensidad indica la cantidad de anticuerpos presente para el virus de Newcastle en el suero examinado. Para la interpretación de los resultados dados por esta prueba, se utiliza un lector denominado espectrofotómetro, el cual

traduce la lectura del suero como la densidad óptica en un título mediante un programa específico para el tipo de kit de ELISA utilizado (Vargas, 2014).

Los ensayos inmunológicos son procedimientos en los cuales se utilizan anticuerpos como reactivos enlazantes específicos. Y tienen determinación o cuantificación de fármacos terapéuticos y no terapéuticos, diversas sustancias biológicas, sustancias infecciosas o anticuerpos de respuesta de huésped en el suero, en la orina, en el líquido cefalorraquídeo en saliva (Guzmán, 2004).

La prueba de ELISA se basa en varias teorías:

- 1) El antígeno y anticuerpo pueden enlazarse a una superficie portadora insoluble y retener su actividad inmunológica
- 2) Las enzimas tienen actividad específica alta y convierten una cantidad relativamente grande de sustrato en producto detectable, lo que permite detectar concentraciones muy bajas del ligado.
- 3) La actividad enzimática o reactividad inmunológica de los conjugados se preserva y permanece estable durante el análisis y el almacenamiento.
- 4) Las enzimas no están presente en el líquido biológico que se va a analizar (Guzmán, 2004).

El Ensayo por Inmunoabsorción es una prueba de alta precisión que combina la especificidad de los anticuerpos con la sensibilidad enzimática. Los componentes de esta prueba son: El sustrato, el conjugado (Anti-Anticuerpo), la muestra y el cromógeno, quienes a través de un protocolo estandarizado permite una reacción colorimétrica que es leída por un 25 software especialmente diseñado. Hay cuatro tipos o variantes según el objetivo a revelar:

- Anticuerpos marcados: ELISA Directo, ELISA Indirecto y ELISA sándwich.
- Antígenos marcados - ELISA competitivo (Soto, 2013).

Fundamento De La Prueba De ELISA:

Los pozos en la microplaca sirven como el “fundamento” de la prueba ELISA. Cuando el suero de prueba que contiene los anticuerpos reconocen al antígeno agregado, estos anticuerpos se adhieren a los pozos recubiertos de antígeno. La prueba ELISA deriva su nombre al uso de enzimas (peroxidasas, fosfatasas, biotina, etc.) que están ligadas a los anticuerpos específicos. Estos

anticuerpos ligados a enzimas cuando se juntan a otro anticuerpo, se vuelven los “generadores de color” del ensayo. Cuando una solución incolora llamada sustrato se mezcla con el conjugado, el sustrato transparente se colorea. La cantidad de color puede ser medida con un lector de placas ELISA. La prueba de ELISA es una prueba colorimétrica, la cantidad de color de cada muestra es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpos específicos presentes en la muestra (entre más oscuro esté el pozo con la muestra, mayor es la cantidad de anticuerpos presentes en esa muestra de suero). La cantidad de color se mide en un lector ELISA y registrada en Densidades Ópticas (D.O.). La D.O. de cada muestra es comparada con el control positivo para calcular el factor SP. Debido a que las condiciones ambientales y el tiempo usado en la prueba varían a diario en el laboratorio, el ajuste SP normaliza el cálculo del título al minimizar el impacto de las condiciones que afectan a la microplaca. Esto permite al personal del laboratorio correr la prueba dentro de un rango razonable de condiciones y así obtener resultados reproducibles (Motta., 2002).

ELISA indirecto.

Entre los primeros se destaca el principio de ensayo indirecto, en el cual los antígenos capturan a los anticuerpos y la reacción se evidencia por el conjugado antiinmunoglobulina-enzima, o proteína A-enzima. La cantidad de enzima enlazada indica la cantidad de anticuerpos en el suero y puede ser medida por la degradación de su sustrato. No obstante, debe tenerse en cuenta que su correlación con los ensayos *in vivo* se afecta cuando la concentración de anticuerpos es baja, ya que el ELISA indirecto tiende a sobrestimar los sueros de bajos títulos, probablemente esto se deba a la presencia de inmunoglobulinas inespecíficas o anticuerpos de baja afinidad. Este método es el de elección para detectar anticuerpos de clase IgG o IgA. La IgM puede estudiarse previa absorción de los anticuerpos IgG, aunque este isotipo debe evaluarse preferentemente con ensayos de captura IgM. Los ensayos indirectos presentan una alta detectabilidad que depende de la densidad de epítomos de relevancia diagnóstica presentes en la fase sólida (Ochoa & López, 2012, pág. 7).

2.1.14. Diagnóstico diferencial.

La enfermedad de Newcastle debe diferenciarse de: Cólera aviar, Influenza Aviar, Laringotraqueitis, Psitacosis (Clamidiasis en aves psitácidas), Micoplasmosis, Bronquitis infecciosa y Malos manejos, tales como ausencia de agua, alimento y ventilación (Arenas, 2003).

2.1.15. Tratamiento.

No existe tratamiento para esta enfermedad, por este motivo se deben establecer medidas estrictas para su prevención y control. Existen varios aspectos fundamentales, como lo son la bioseguridad y la vacunación, evitando el ingreso del virus mediante procesos estrictos de bioseguridad y brindando una adecuada inmunización de las aves mediante vacuna, sería fundamental la implementación de nuevas estrategias y programas para su control en un futuro. Ante la sospecha de Newcastle se debe tener en cuenta algunos parámetros como: la alteración de los parámetros zootécnicos, la presencia de signos respiratorios y nerviosos, mortalidad y vacunación (Velásquez & Felipe, 2016).

2.1.16. Prevención y control

La prevención y control lo realiza mediante la cuarentena que es una estrategia implementada para proteger a las aves en producción o de uso ornamental de la infección con el Virus de Newcastle, para evitar la diseminación de las enfermedades infecciosas, debe ser realizada tanto en animales vivos como en los productos, subproductos, residuos orgánicos de origen aviar, además reducir el número de aves susceptibles a este virus mediante la aplicación de la vacunación. Las vacunas más difundidas en el mundo son las que contienen virus lentogénico del tipo cepa Hitchner-B1 y La Sota, esta última cepa induce una respuesta inmune más fuerte. La ventaja de este tipo de vacunas permite la vacunación en masa, ya que nos permite incorporar en el agua de bebida, administrándose como un spray grueso o mediante instilación conjuntival o intranasal, haciendo que el uso de esta sea más rentable para la industria avícola (Ortiz, 2016). Una buena bioseguridad puede ayudar a prevenir la enfermedad en aves de corral; evitando el contacto de aves domésticas infectadas con estado de salud desconocido. Las medidas incluyen galpones protegido de aves migratorias y la desinfección de vehículos, equipos y de personal que entra a la granja (Araujo, 2011).

Para la prevención y el control de la Enfermedad de Newcastle se utilizan vacunas a virus vivo y vacunas a virus inactivado. Vacunas Vivas: las cepas virales utilizadas son del grupo de las lentogénicas y en algunos países mesogénicas. La respuesta inmunitaria aumenta conforme es mayor la patogenicidad de la vacuna viva. Vacunas Inactivadas: generalmente se elaboran con

líquido alantoídeo infectante tratado con β -propiolactona o formalina para inactivar al virus, mezclado con un adyuvante portador (Hernández, 2003).

2.1.17. Programa de Vacunación

A continuación, se presenta un esquema de vacunación completo, incluida la inmunización contra la enfermedad de Newcastle.

Tabla 2 Plan de Vacunación para aves

Edad	Tipo de vacuna	Aplicación
1 día	Influenza aviar/ Viruela	Cuello
7 días	Newcastle/Bronquitis/Gumboro	Ocular
15 días	Gumboro	Ocular
21 días	Newcastle/Bronquitis Gumboro	Ocular Cuello
8 semanas	Newcastle/Bronquitis Viruela/Encefalomiелitis	Ocular/Agua/Aspersión Ala
11 semanas	Newcastle/Influenza Aviar Cólera Aviar Coriza ABC Newcastle/Bronquitis Viruela/Encefalomiелitis	Pechuga Cuello Ocular/Aerosol Ala
16 semanas	Newcastle Newcastle/Bronquitis/Coriza Cólera Aviar viva Influenza Aviar	Ocular Pechuga Ala Cuello

Fuente: (Vera, 2019)

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

La parroquia de Tundayme está ubicada en el cantón El Pangui, provincia de Zamora Chinchipe. Tiene una superficie de 25643,75 ha, forma parte del cantón El Pangui, zona nororiental del cantón, con una población de 850 habitantes. La comunidad de Tundayme se ubica en la Región Amazónica, su clasificación bioclimática por los valores de altitud (300 – 1.900 msnm), precipitación (1500 – 2000 mm), temperatura (18 – 22 °C) y ubicación (estribaciones de cordillera) a las regiones climáticas Húmedo Subtropical y muy Húmedo Subtropical (Sotomayor, 2021).

Delimitación:

Norte: provincia de Morona Santiago.

Sur: parroquia Los Encuentros del cantón Yanzatza.

Este: límites internacionales del Perú.

Oeste: parroquias El Guismi, cabecera parroquial El Pangui y Pachicutza.

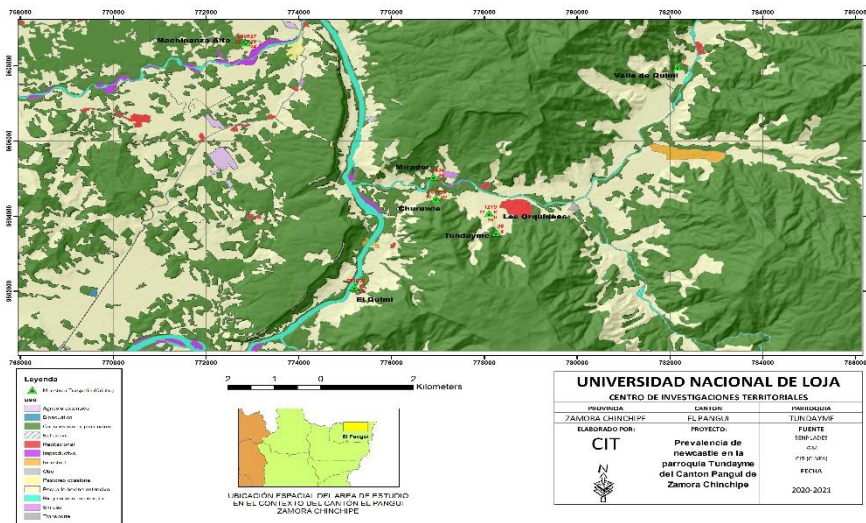


Figura 2 Mapa de la Parroquia Tundayme (Sotomayor, 2021).

Las pruebas de laboratorio se realizaron en las instalaciones del Departamento de Investigación de la Universidad Nacional de Loja, en Centro de Biotecnología, con cargo al proyecto de Investigación “Base Genética de la Resistencia de la Gallina Doméstica (*Gallus domesticus*) al virus de Newcastle en la Región Sur del Ecuador”

3.1.1. Descripción del Estudio.

Este es un estudio de tipo prospectivo y de corte transversal, se consideró: una fase de campo, en la cual se recogieron muestras de sangre de aves de traspatio en los barrios de la parroquia Tundayme: Tundayme, Las Orquídeas, Valle del Quimi, El Quimi, Manchinaza Alto, Mirador, Churuwia y, una de laboratorio, donde se procesaron dichas muestras y se procedió al diagnóstico de la Enfermedad de Newcastle mediante serología.

3.1.2. Tipo de Muestreo y tamaño de muestra

En la presente investigación se consideró un tipo de muestreo no probabilístico (por conveniencia). Las muestras se recogieron entre los meses de octubre del 2019 y enero del 2020 en un número de 148, a partir de 43 unidades de producción agrícola UPA, de acuerdo a la disposición de los propietarios para participar en este estudio. Los barrios de la parroquia Tundayme que participaron en este estudio fueron: Tundayme (36), Las Orquídeas (31), Valle de Quimi (17), El Quimi (18), Manchinaza Alto (20), Mirador (15), Churuwia (11). Las explotaciones que fueron parte del estudio cumplieron con las características de no estar vacunada y que correspondan a una edad de 20 semana hacia delante.

3.1.3. Diagnóstico de Newcastle y Determinación de Factores de Riesgo

3.1.3.1. Toma, transporte y procesamiento de muestras

Las muestras fueron obtenidas por medio de jeringas estériles en cantidades de 2 -3 ml por venopunción de la vena alar, las mismas que se depositaron en tubos vacutainer sin anticoagulante y fueron mantenidas a una temperatura aproximada de 4°C durante su transporte por un tiempo máximo de 4 horas hasta llegar al laboratorio. En la fase de laboratorio, se procedió a centrifugar las muestras a 3000 rpm durante 5 minutos para obtener el suero, el cual fue transferido a tubos eppendorf, los que se rotularon y almacenaron en las alícuotas a -20 °C, hasta que se realizó el diagnóstico respectivo.

3.1.3.2. ELISA Indirecto para el Diagnóstico de Newcastle

La técnica empleada fue un ELISA indirecto para medir la concentración relativa de anticuerpos frente al virus Newcastle en suero de pollos (IDvet). Luego de haber validado el kit,

se consideró para la interpretación a títulos menores o iguales a 993 como casos negativos y mayores a 993 como casos positivos.

a. Prueba de ELISA

Se utilizó un Kit para la detección de anticuerpos contra el Virus de la Enfermedad de Newcastle en suero de gallina, patos y pavos, fabricado por los laboratorios ID.vet. El Kit permite cuantificación de anticuerpos específicos presentes en el suero de gallinas, patos o pavos. Los pocillos son sensibilizados con el antígeno purificado de NDV.

Las muestras a analizar y los controles son añadidos a los pocillos. Los anticuerpos de NDV, si están presentes, formaran un complejo antígeno-anticuerpo. Después de la eliminación del exceso del conjugado mediante lavado, la reacción es revelada a través de una solución de revelación (TMB). La coloración que resulta está ligada a la cantidad de anticuerpo específicos presentes en las muestras a analizar.

- ✓ En prevalencia de anticuerpos en las muestras, aparece una coloración azul que se convierte en amarilla después de añadir la solución de parada.
- ✓ En ausencia de anticuerpo en las muestras, no aparece ninguna coloración.

La lectura se realiza a una longitud de onda de 450 nm.

El procedimiento de la prueba se realizó de la siguiente forma:

Colocar todos los reactivos a temperatura ambiente ($21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) antes de ser utilizados y homogenizado por vórtex o por inversión.

1. En una pre-placa de pre-dilución dejar de lado los pocillos destinado a los controles A1, B1, C1 y D1 y añadir:
 - ✓ 5 μl de cada muestra analizada
 - ✓ 245 μl de diluyente 14 a todos los pocillos excepto a los pocillos A1, B1, C1 y D1.
2. En una placa de ELISA añadir:
 - ✓ 100 μl de Control Negativo los pocillos A1 y B1.
 - ✓ 100 μl de Control Positivo en los pocillos C1 y D1.

- ✓ Colocar 90 µl de diluyente 14 a todos los pocillos que contengan muestras a analizar (NO a los pocillos A1, B1, C1 y D1)
- 3. Cubrir la placa e Incubar durante 30 minutos (± 3 minutos) a 21°C ($\pm 5^\circ\text{C}$).
- 4. Preparar el Conjugado (1x) diluyendo el conjugado concentrado (10x) a 1:10 con el diluyente
- 5. Vaciar los pocillos. Lavar cada pocillo 3 veces con solución de lavado. Evitar el desecado de los pocillos durante los lavados.
- 6. Añadir 100 µl de Conjugado 1x a cada pocillo.
- 7. Cubrir la placa e Incubar durante 30 minutos (± 3 minutos) a 21 °C (5 °C).
- 8. Vaciar los pocillos. Lavar cada pocillo 3 veces con solución de lavado. Evitar el desecado de los pocillos durante los lavados.
- 9. Añadir 100 µl de la Solución de revelación a cada pocillo.
- 10. Incubar durante 15 minutos (± 2 minuto) a 21°C ($\pm 5^\circ\text{C}$) en la oscuridad.
- 11. Añadir 100 ul de Solución de parado a cada pocillo para detener la reacción. La solución de parada debe ser agregada en el mismo orden.
- 12. Leer y guardar la DO a 450 nm.

3.1.3.3. Variables

Las variables que se tomaron en cuenta para este estudio fueron: 1). Dependiente: resultado positivo/negativo a ELISA indirecto para diagnóstico de Newcastle en aves de traspatio; y, 2). Independientes: presencia de otras especies aviarias, origen de las aves, presencia de filtros sanitarios (pediluvios), práctica cambio de vestimenta, procedencia (barrio), tipo de ave y tipo de manejo.

3.1.3.4. Análisis estadístico

Por medio de estadística descriptiva se estimó la frecuencia de Newcastle en los barrios. Mientras que, para determinar los factores asociados, en el caso de las variables dicotómicas, se usó la prueba de bondad de ajuste Chi cuadrado, considerando un valor de p menor o igual a 0.05 como estadísticamente significativo. Las variables politómicas fueron consideradas dentro de modelos univariados de regresión logística; para estos análisis se consideraron valores de p menores o igual a 0.05 como estadísticamente significativos. Para cumplir con lo anteriormente

indicado se emplearon hojas de cálculo de Excel 2010 y el programa estadístico “R” versión 3.5.1 de libre acceso.

3.1.5. Caracterización los Sistemas de Explotación de las Aves de Traspatio en el Sector de Tundayme

El escenario de trabajo fueron los barrios de la parroquia Tundayme, cantón El Pangui, provincia de Zamora Chinchipe. Las encuestas se realizaron en los 7 barrios que la conforman; en las cuales se caracterizó los sistemas de explotación, mediante la aplicación de una encuesta en la cual se formuló preguntas para lograr el objetivo propuesto.

3.1.5.1. Características de los predios

Con respecto a las características de los predios, se investigó: el sistema de manejo, presencia de otras especies aviares y origen de las aves.

3.1.5.2. Bioseguridad

La bioseguridad incluye todas las medidas de manejo llevadas a cabo para reducir el riesgo de que las aves se enfermen, evitando de esta manera que se perjudique el rendimiento de las mismas. En relación a lo establecido en la encuesta aplicada en el sector se analizó algunos puntos como: la existencia de filtros sanitarios(pediluvios) en el predio, cambio de vestimenta para atender a las aves, plan de vacunación, disposición de mortalidad de las aves, desinfección de los galpones y disposición de gallinaza. También debe comprender que la bioseguridad depende de las acciones que realiza cotidianamente en la granja.

4. RESULTADOS

Producto de esta investigación, y de acuerdo a los objetivos establecidos se exponen los siguientes resultados:

4.1. PREVALENCIA DE NEWCASTLE

La seroprevalencia de la parroquia Tundayme y sus barrios se presenta en la tabla 3.

Para la determinación de la prevalencia de Newcastle se realizó el análisis de 148 muestras de suero de aves de traspatio procesadas mediante la prueba de ELISA indirecto, en el Centro de Biotecnología de la Universidad Nacional de Loja. De las cuales, 13 gallinas que representan a un 8,78%, 14 gallos que representa un 9,46% y 1 pato que representa un 0,68% resultaron positivas, en un total de 28 aves que representan 18,92% de la población estudiada; mientras que 85 de gallinas y gallos que representa a 57,43% y 35 patos que corresponde a un 23,65% de las muestras analizadas fueron negativas en un total de 120 que representan a (81,08%) (Tabla 3).

Tabla 3. Seroprevalencia de Newcastle en diferentes especies de aves de traspatio de la provincia de Zamora Chinchipe cantón el Panguí parroquia Tundayme.

Aves	Casos positivos		Casos negativos	
	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje
Gallinas	13	8,78%	55	37,16%
Gallos	14	9,46%	30	20,27%
Patos	1	0,68%	35	23,65%
Total general	28	18,92%	120	81,08%

4.2. FACTORES ASOCIADOS A NEWCASTLE EN AVES DE TRASPATIO DE LA PARROQUIA TUNDAYME

Los factores que se asocian a la infección por el virus de Newcastle en el lugar de estudio se presentan en la tabla 4.

De acuerdo a lo que se muestra en la tabla 4, ninguna variable dicotómica está asociada con virus de Newcastle, ya que los valores de p son mayores a 0,05.

Tabla 4. Factores asociados a la presencia de Newcastle en la Parroquia Tundayme, análisis de variable

VARIABLES DICOTÓMICAS	Valor de P	OR
Presencia de otras especies	1	0,6
Origen de las aves	0,53	0,66
Presencia de filtros sanitarios	0,47	2,17
Práctica cambio de vestimenta	0,47	2,17

En la tabla 5 se muestra el resultado del análisis de factores de riesgo, considerando a las variables: procedencia, tipo de aves y tipos de manejo. Asimismo, de acuerdo al análisis estadístico, la variable tipo de aves está asociada con la enfermedad, siendo que el riesgo de infección disminuye en los patos con respecto a gallinas; ya que el valor de p es menor a 0,05 y el OR es menor a 1. Para el resto de variables (procedencia, manejo) el p es mayor a 0,05 por lo que no existe asociación a la enfermedad (Tabla 5).

Tabla 5. Análisis de variable politómicas asociadas a la prevalencia del virus de Newcastle

VARIABLES POLITÓMICAS	Casos Positivos		Casos negativos		Valor de p	OR	IC
	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje			
Barrio							
Churuwía	0	0,00%	11	7,43%			O-Inf
Tundayme	8	5,41%	28	18,92%	0,99	12115546	O-Inf
Las Orquideas	4	2,70%	27	18,24%	0,99	6324870	O-Inf
Valle del Quimi	6	4,05%	11	7,43%	0,09	23207824	O-Inf
Machinanza Alto	3	2,02%	17	11,48%	0,98	7496899	O-Inf
El Quimi	4	2,70%	14	9,45%	0,99	17021708	O-Inf
Mirador	3	2,02%	12	8,10%	0,98	10638606	O-Inf
*Tipo de aves							
Gallinas	13	8,78%	55	37,16%			
Gallos	14	9,46%	30	20,27%	0,1281	1,97	0,82-4,74
Patos	1	0,68%	35	23,65%	0,0462	0,12	0,01-0,96
Manejo							
Extensivo	24	16,22%	108	72,97%			
Intensivo	2	1,35%	3	2,03%	0,243	3	0,4-18,9
Mixto	2	1,35%	9	6,08%	1	1	0,20-4,93
Total general	28	18,92%	120	81,08%			

*Variables asociadas a la infección por el virus de Newcastle

4.3. CARACTERIZACIÓN DE LOS SISTEMAS DE EXPLOTACIÓN DE LAS AVES DE TRASPATIO

4.3.1. Características y Bioseguridad de los Sistemas de Explotación de las Aves de Traspatio

4.3.1.1. Sistema de manejo

Las especies avícolas manejadas dentro de los sistemas: intensivo (3,4%), extensivo (89,2%) y mixto (7,43%) corresponden a gallinas y patos; de esta manera se conoció el tipo de manejo que brindan a las aves donde predominan es el sistema extensivo y mixto; de tal manera los animales se mantienen en condiciones de pastoreo, la alimentación se basa principalmente en maíz, desperdicios alimenticios y de la cocina logrando con esto economizar o disminuir el uso de maíz. Si bien es cierto que en estos sistemas (extensivo y mixto) el maíz es el insumo principal en la alimentación de las aves este, otros insumos como: gusanos, lombrices, semillas y hojas de plantas aledañas al sistema de producción, logrando con esto abaratar la dieta de las aves. Con referencia al sistema intensivo que corresponde al (3,4%). Dentro del manejo de los predios que practican diariamente los productores, está el confinar a los animales en las noches para protegerlos de depredadores que existen en el medio.

Con respecto a la presencia de otras especies aviarias el 94,6% de predio no carecen, mientras que el 5,4% si existe la presencia de otras especies aviarias (aves exóticas).

4.3.1.2. Origen de tener aves

El origen de las aves para la implementación de producción se da mediante la distribución comercial (13,5%) y nacidos del predio (86,5%) respectivamente.

4.3.1.3. Existencia de filtros sanitarios

La implementación de filtros sanitarios en los predios es desfavorable donde el (98%) de la población que participo en estudio carece de filtro sanitario, mientras que el (2%) si cumplen con la colocación de los filtros sanitarios en la entrada de los predios.

4.3.1.4. Práctica cambio de vestimenta

Con relación a lo establecido en el cambio de vestimenta para la atención de las aves el 98% de los propietarios no lo realizan este tipo de cuidado, mientras que el 2% si lo realizan.

4.3.1.5. Realizan vacunación de las aves

Del 100% de los predios muestreados el 10,8% manifestaron que las aves estaban vacunadas para Newcastle; esto se debe que, al compran sus aves en almacenes veterinarios ya vienen aplicadas la primera vacuna para Newcastle. Porque en este medio no existe una cultura de vacunación, mientras que el 89,2% no vacunan las aves en toda la etapa de vida.

Con respecto al 10,8% este resultado se debe a la encuesta aplicada en forma aleatoria a los predios; sin que necesariamente en ellos se haya obtenido muestras para serología.

4.3.1.6. Disposición de mortalidad y gallinaza

En relación al manejo de la mortalidad de las aves el 50,7% lo botan al bosque, mientras el 49,3% lo entierran sin acatar las normas de bioseguridad. Con respecto a la disposición de la gallinaza el 49,3% lo utilizan como abono sin tratamiento para los cultivos (yucas, plátanos y maíz), mientras el 50,7% lo botan a cielo abierto sin realizar un tratamiento adecuado.

4.3.1.7. Desinfección

La desinfección es uno de los pilares más fundamental en una explotación de aves, el 58,8% no realizan la desinfección de los predios, mientras que el 41,2% de los productores si lo realizaban (cal y creso).

5. DISCUSIÓN

5.1. Seroprevalencia.

Las explotaciones que formaron parte del estudio cumplieron con las características de tener la edad adultos y no estar vacunadas contra la enfermedad de Newcastle, y si lo estaban es porque fueron vacunados en sus primeros días de vida en almacenes veterinarios lo cual no fueron tomados en cuenta para la extracción de la sangre.

La seroprevalencia de Newcastle en aves de traspatio fue de 18,92%. En los barrios Valle del Quimi (4,05%), Tundayme (5,41), Las orquídeas (2,70%), Churubia (0%), Machinanza Alto (2,02%), el Quimi (2,70%), Mirador (2.02%), de esta manera se sugiere que si existe la circulación del virus en la parroquia Tundayme cantón El Pangui provincia de Zamora Chinchipe. Estudios realizados por Cueva (2017), mediante prueba de inhibición de la hemaglutinación (HI) en aves de traspatio demuestra que la prevalencia del virus de Newcastle es 0% en la provincia de Zamora Chinchipe. Sin embargo en la misma localidad otro estudio realizado mediante prueba de hemoaglutinación (HA) por Quezada (2017), demuestra que las aves silvestres de humedales de la provincia de Zamora Chinchipe no existe la presencia de los virus de la enfermedad de Newcastle. Los dos estudios realizados indican que no existe la circulación del virus en la provincia de Zamora, mientras que en el estudio actual indican que el virus se mantiene circulante en el ambiente, más aún cuando los objetos de investigación aves que no han sido previamente inmunizadas. Se debe tener en cuenta que los ensayos afectan cuando la concentración de anticuerpos que puede sobreestimar, esto se debe a la presencia de inmunoglobulinas inespecíficas (Ochoa & López, 2012).

Una prevalencia cercana a la encontrada en este estudio reportó Vera (2019), en aves de traspatio en los cantones: Loja, Zapotillo, Catamayo, Cariamanga, Chaguarpamba, Célica de la provincia de Loja el (18,12%) de aves de traspatio poseen anticuerpos del virus de Newcastle. un estudio similar realizada en la provincia de Azuay por Farid (2017), el 14% y 29,48% de gallinas reproductoras vacunadas y pollos no vacunados reflejando que existe una relación positiva entre la actividad de vacunación y el desarrollo de anticuerpo post-vacunales dando un efecto significativo en la respuesta inmunológica en aves de traspatio ante la enfermedad de Newcastle. Una prevalencia cercana reportaron Villacís et.,al (2015), en aves de traspatio del cantón Zapotillo

(9,85%), las mismas que no fueron inmunizadas, lo cual sugiere la circulación del virus en el ambiente; esto corrobora Armijos (2014) y Guaya (2015), quienes reportan la presencia de cepas patógenas circulantes del virus mediante pruebas moleculares.

Asimismo, una prevalencia similar a la indicada en este estudio, fue registrada en Lima-Perú (9,9%) en aves con crianza no tecnificada, a partir de un muestreo serológico realizado en el 2001 (Ferrer, Icochea, Salas, & Alba., 2008). Sin embargo, un estudio realizado en Lima- Perú la prevalencia del virus en patos fue de 0.1% (Buendía, 2014).

5.2. Factores de riesgo.

De acuerdo al análisis estadístico, las variables dicotómicas que muestra en la tabla 4, resultó no estar asociada a la seroprevalencia de Newcastle, lo cual no constituye un peligro. De acuerdo a Escudero et al., (2016) constituyen un peligro las explotaciones ilegal de aves exóticas, comercialización legal de aves domésticas, comercio legal de productos avícolas (huevo, carne), y transmisión mecánica.

De acuerdo al análisis estadístico la variable tipo de aves está asociada a la seroprevalencia de Newcastle. Se estima que el riesgo de infección disminuye en los patos con respecto a las gallinas donde el OR es menor a 1. Esto explica que en el área no hay una historia de vacunación, las gallinas y los patos podrían haberse expuesto a una infección natural; teniendo en cuenta que los patos son animales rústicos, tienen menos riesgo de enfermar. Estas declaraciones confirman las opiniones de los productores rurales de este estudio. Según Salgado et al., (2012) da a conocer que patos rara vez se enferman, son animales extremadamente rústicos y saludables. Sin embargo, hay que considerar que en la parroquia Tundayme una cantidad de productores (13,5%) adquieren aves vacunadas de almacenes veterinarios que están clínicamente sanas, pero pueden excretar el virus, por lo que estas se puede considerar un factor de riesgo importante en la avicultura (Escudero et al., 2016).

5.3. Caracterización de los sistemas de explotación en aves de traspatio

La avicultura de traspatio es una actividad de gran importancia en las comunidades rurales del país; enfatizando más en la parroquia Tundayme del cantón El Pangui provincia de Zamora Chinchipe, el 89,2% de la población lo realizan de manera extensiva. En un estudio realizado por

Sánchez et al., (2019), mencionan que de toda la producción avícola el Ecuador el 15,3% lo realizan en el campo sin necesidad de contar con planteles avícolas. Las especies más utilizadas son las criollas dadas a que se adaptan a las condiciones adversas para su crianza. Esta actividad fortalece al bienestar de las familias campesinas ya que produce productos de alto valor nutritivo tiene gran capacidad para producir huevo y carne en poco tiempo se requiere poco espacio. Se evidenció en el estudio que si existe la presencia de otras especies aviares en algunos predios como pavos y aves ornamentales

El origen de tener aves para la implementación de las unidades de producción de traspatio, el 86,5% son nacidos del predio; de esta manera nos dan a conocer que no necesita comprar pollitas de las veterinaria como lo menciona en un estudio realizado por Ruiz (2013), nos demuestra que las aves de traspatio son adquiridas de programas de gobiernos, herencia familiar y de Veterinarias.

Con respecto a la bioseguridad de los sistemas de explotación se analizó varios puntos como: la existencia de filtros sanitarios, el cambio de vestimenta al momento de alimentar las aves, desinfección, disposición de mortalidad y gallinaza de las aves, donde se pudo constatar que la mayor parte de las explotaciones avícolas no contaban con manejo sanitario adecuado ya sea por su poca experiencia en sanidad animal. De acuerdo a lo que nos indica Ruiz (2013), que los productores de los sistemas de producción carecen de conocimiento básicos de un control sanitario, donde solo el 36% de la población estudiada aplicaban vacunas a sus aves. En lo respecto al 10,8% que fueron vacunadas, se dió porque estas aves son adquiridas de almacenes veterinarios. En relación a prácticas de medicina preventiva que solo el 30% las realizan y de manera ocasional (Cruz, 2008).

6. CONCLUSIONES

De los análisis y discusión de los resultados obtenidos en esta investigación se concluye lo siguiente:

- La seroprevalencia de virus de Newcastle en aves de traspatio determinada mediante ELISA indirecto fue de 18,92 %, distribuida de la siguiente manera: gallinas (8,78%), gallos (9,45%), Patos (0,68%).
- La variable tipo la variable tipo de ave se consideró un factor asociado a la infección por el virus de Newcastle en la provincia de Zamora Chinchipe ($p < 0.05$), de manera que los patos tienen un riesgo menor de infección al virus de Newcastle que las gallinas ($OR < 1$)
- La Unidad de Producción de Traspatio es un sistema de producción dentro de los hogares, que asegura una mejora en la alimentación de las familias rurales de la parroquia Tundayme, siendo el principal administrador las madres de familia generando recurso alimenticio por el alto valor nutritivo con una baja inversión en infraestructura, manejo sanitario.

7. RECOMENDACIONES

Una vez concluido el trabajo de investigación se puede tomar en cuenta las siguientes recomendaciones:

- Realizar trabajos de investigación de seroprevalencia de Newcastle en aves silvestres para determinar su rol como posibles vectores.
- Se recomienda a los propietarios establecer planes adecuados de bioseguridad de las aves de traspatio y la vigilancia epidemiológica activa de los casos sospechosos.
- Considerar los resultados de este tipo de estudios como fuentes de información importante acerca de los factores de riesgo de infección con el virus de Newcastle, de manera que permitan proponer medidas de control.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Araujo, R. (2011). Enfoque Zoonótico de la Enfermedad de Newcastle. *Articulo Cientifico*.
Revista del Colegio de Medicos Veterinarios del estado de Lara , Venezuela.
- Arenas, M. (2003). Determinación de anticuerpos serico contra las enfermedades de Newcastle.
Tesis. Universidad de San Marcos de Guatemala, Guatemala.
- Arias, C., & Lomas, P. (2013). Análisis de los factores que determinan la sostenibilidad y sustentabilidad de la economía social y solidaria para la crianza y comercialización de aves en pie, derivados y faenados en los cantones de Quito, Cayambe y Pedro Moncayo.
Tesis. Univesidad Politécnica saleciana sede Quito, Ecuador.
- Armijos, j. (2014). Determinación de la presencia del virus de Newcastle en gallinas criollas en Zapotillo. *Tesis*. Universida Nacional de Loja, Ecuador.
- Buendía. (2014). Detección del virus de la enfermedad de Newcastle en patos criollos de traspatio. *Tesis*. Universida Nacional Mayores de San Marcos, Peru.
- Cruz, M. (2008). La ganaderia en sistema familiar campesino. Con atencion especial Avicultura.
Tesis. Universidad Nacional Autonomo de Mexico; Colegio de Posgrado Campus Puebla, Mexico .
- Cuello, S., Vega, A., & Noda, J. (2011). Actualizaciones sobre la Enfermedad de Newcastle.
Revista electronica de Veterinaria. Laboratorio de Virologia animal, España.
- Cueva, E. (2017). Determinación de la presencia del virus de Newcastle en aves de Traspacios en la provincia de Zamora Chinchipe. *Tesis*. Universidad Nacional de Loja.

- Escudero, G., Yaguana, J., Herrera, R., & Herrera., V. (2016). Factores de riesgo para el ingreso y difusión del virus de la enfermedad de Newcastle en el Ecuador. *Artículo Científico*. Universidad Nacional de Loja, Ecuador.
- Farid, R. (2017). Determinación de anticuerpos serológicos para la enfermedad de Newcastle mediante prueba de ELISA competitivo en la avicultura de traspatio en la parroquia de Checa. *Tesis*. Universidad de las Américas, Azuay.
- Ferrer, R., Icochea, E., Salas, A., & Alba., M. (2008). Prevalencia de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Newcastle en Gallus de Lima . *Articulo Científico*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Peru.
- Guaya, J. (2015). Aislamiento del virus de la enfermedad de Newcastle en gallina domesticas del cantón Zapotillo. *Tesis*. Universidad Nacional de Loja.
- Guzmán, E. (2004). Prueba de Elisa Madigraphic. *Articulo científico*. Laboratorio de Endrocrinología Instituto Nacional de Pediatría, México.
- Hernández, R. (2003). Caracterizacion de un aislado de campo de de ENC. *Tesis de Medico*. Universidad Austral de Chile, Chile.
- Iglesias, M., Martínez, A., Torre, A. d., & Sanchez, V. (2008). Riesgo de la entrada de la enfermedad de Newcastle en España a traves de Columbifomes. *Articulo Científico*. Departamento de Sanidad Animal; Facultad de Veterinaria; Universidad Complutense de Madrid; Departamento de Sanidad Ambiental CISA-INIA, España.

- León, V. M., & Chávez, M. C. (2019). Actualización de la epidemiología de la enfermedad de Newcastle. *Articulo Científico*. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Agraria de la Habana UNAH, Cuba.
- Linares, J. (2013). Desarrollo de un análisis de riesgo de entrada y un modelo de difusión potencial del virus de Newcastle en la república Argentina. *Tesis*. Univesidad Complutense de Madrid.
- Medicine, C. o. (2008). Enfermedad de Newcastle-CFSPH. *Articulo Científico*. Iowa State Univercity, Ames Iowa-Estados Unidos.
- Motta., M. (2002). Comparacion de las pruebas serologicas de inhibicion de la Hemoaglutinacion y la prueba de Elisa en la deteccion de anticuepos circulantes contra la enfermedad de Newcastle. *Tesis*. Universidad de San Marcos de Guatemala.
- Ochoa, R., & López, V. (2012). Técnicas inmunoenzimáticas para ensayos clinicos de vacunas y estudios inmnoepidemiológicos. *Tesis*. Departamento de Inmunología del Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas Victoria de Giron, La Habana.
- Ortiz, R. (2016). Virus de la enfermedad de Newcastle en aves silvestres y domesticas. *Tesis*. Facultad de Ciencia Veterinaria, Lima.
- Quezada, J. (2017). Determinacion de la presencia del virus de Newcastle en aves silvestres de humedales de la provincia de Zamora Chinchipe. *Tesis*. Universidad Nacional de Loja.
- Ruiz, H. (2013). Caracterizacion de sistema de produccion de aves de traspatio en areas de alta marginacion del estado de Chiapas. *Tesis*. Universidad Autonoma de Chiapas, Mexico.

- Salazar, L., Kim, M., King, D., Suarez, D., Wong, C., & Afonso, C. (2017). Determinacion de la presencia del virus de Newcastle en aves de Traspatio de la provincia de El Oro. *Tesis*. Universidad Nacional de Loja, Loja.
- Salgado, M., & López, J. (2012). Crianza de patos domé en la comunidad de Piedra Colorada, Matagaipa. Estudio del caso. *Tesis*. Universidad Nacional Agraria, Nicaragua.
- Sánchez, A., Vayas, T., Mayorga, F., & Freire, C. (2019). Sector Avicola Ecuador. *Articulo Cientifico*. Universidad Tecnica de Ambato; OBEST.
- Sialer, M. (2017). Evaluación de la eficacia de una vacuna vectorizada para el control de Newcastle aplicada en pollos bb en plantas. *Tesis*. Universidad Nacional de San Marcos, Peru. Obtenido de tesis.
- Soto, A. (2013). Evaluacion diagnostica de la caustica de enfermedades aviares en tres laboratorios del ICA en el periodo 2009-2011. *Tesis*. Universidad de Tolima, Tolima.
- Sotomayor, F. (2021). *Centro de información geográfica de la UNL CINFA*. Universidad Nacional de Loja, Ecuador.
- Vargas, L. (2014). Evaluación de la presencia de cepas de los virus de Newcastle. *Tesis*. Universidad de la Salle, La Salle. Obtenido de Tesis.
- Velásquez, F., & Felipe, A. (2016). Técnicas diagnósticas para la enfermedad de Newcastle en aves de producción. *Tesis*. Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia.
- Vera, S. (2019). Determinación de la seroprevalencia del virus de Newcastle en aves de traspatio en la provincia de Loja. *Tesis*. Universidad Nacional de Loja, Ecuador.

Villacís, G., Escudero, G., Cueva, F., & Luzuriaga, A. (2015). La prevalencia del virus de Newcastle en pollos nativos. *Artículo Científico*. Universidad Nacional de Loja, Loja.

Yauhar, N., Basso, L., Lotti, A., Otaño, C., & Naso, G. (2013). Estudio de cadena pecuaria del Ecuador. *Artículo Científico*. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca.

9. ANEXOS



Figura 3 Reunión con los moradores



Figura 4 Aves de Traspatio



Figura 5 Materiales de Trabajo



Figura 6 Centrifugación de las Muestras a 3000 rpm durante 5 min.



Figura 7 Transporte de las Muestras



Figura 8 Preparación de Muestras

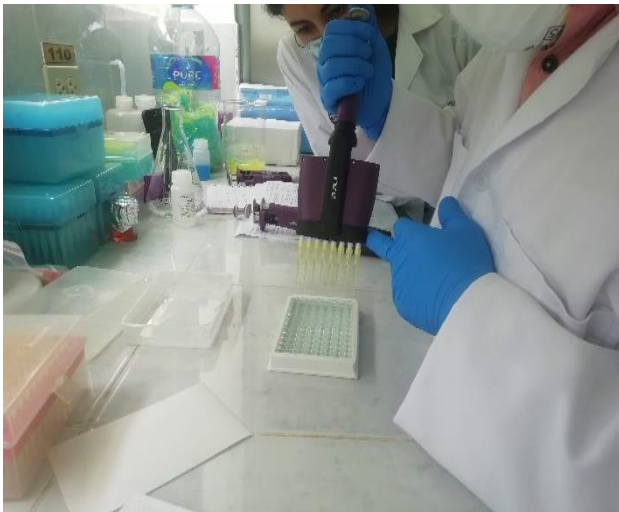


Figura 9 Lavado de pocillos



Figura 10 Kit IDvet para Newcastle

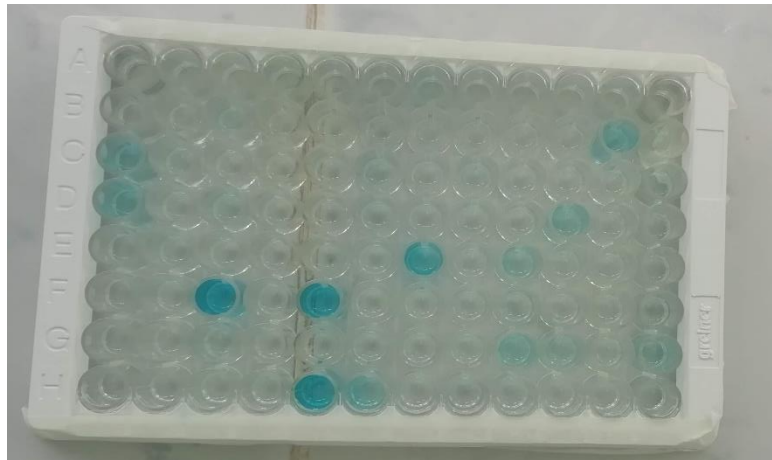


Figura 11 Placa de ELISA indirecto

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	0,059	0,087	0,062	0,106	0,067	0,071	0,178	0,072	0,084	0,085	0,077	0,071	450
B	0,063	0,085	0,169	0,062	0,073	0,068	0,082	0,087	0,089	0,096	0,705	0,078	450
C	0,532	0,099	0,075	0,064	0,083	0,145	0,07	0,149	0,09	0,073	0,079	0,151	450
D	0,549	0,069	0,171	0,065	0,072	0,094	0,069	0,092	0,068	0,484	0,088	0,079	450
E	0,069	0,105	0,065	0,064	0,066	0,066	1,24	0,078	0,362	0,089	0,071	0,09	450
F	0,08	0,065	2,177	0,062	1,771	0,067	0,069	0,103	0,103	0,067	0,078	0,104	450
G	0,067	0,064	0,125	0,063	0,077	0,067	0,084	0,096	0,428	0,285	0,095	0,377	450
H	0,062	0,064	0,081	0,073	1,77	0,444	0,071	0,088	0,083	0,079	0,085	0,08	450

Figura 12 Densidades ópticas de una de las placas de ELISA indirecto obtenidas por lectura en espectrofotómetro

9.1. Encuesta

1. Datos generales

Finca N°: _____	Barrio: _____	Propietario: _____
N° Georeferencia: _____	Parroquia _____	Cantón: _____
Responsable toma de datos: _____	Fecha: _____	

2. Caracterización de los predios.

- Cuál es el sistema de manejo:

INTENSIVO : ()	EXTENSIVO : ()	MIXTO: ()
-----------------	-----------------	------------

- Existen presencia de otras especies.

Presencia de otras especies	SI ()	NO ()
-----------------------------	--------	--------

- Origen de tener aves.

Distribución comercial ()

Nacen del predio ()

No hay información ()

Bioseguridad.

- Existen filtros sanitarios

SI () NO ()

- ¿Realiza cambios de vestimenta para atender a las aves?

SI () NO ()

- Realiza vacunación de las aves

SI () NO ()

- **Disposición de Mortalidad.**

Enterrado.....

Se lo bota al bosque.....

Alimento para cerdos.....

- **Desinfección**

SI () NO ()

Mes ()

Semanal ()

Anual ()

¿Qué producto utiliza para la desinfección?

Yodo total () Cresol () Cal ()

Otros.....

- **Disposición de gallinaza**

Abono sin tratamiento ()

Vende ()

Cielo abierto ()