

# Claves para la interpretación de resultados serológicos en avicultura

Juan Martín Etchegoyen  
Médico Veterinario  
GTA – Octubre 2016

# Usos de la serología en avicultura

---

- Medir la respuesta inmune a vacunas (seroconversión y boosting).
- Establecer Líneas de base.
- Realizar perfiles serológicos de parvadas o Lotes.
- Detectar exposición a campo.
- Determinar ausencia de circulación viral.
- Detectar estados inmunodepresivos.
- Determinar el momento óptimo para vacunar (Gumboro).

# Elementos a tener en cuenta

---

- Sensibilidad y Especificidad del método analítico.
- Validez del ensayo.
- Estadística descriptiva:
  - Tamaño de la muestra (n).
  - Media (Aritmética-Geométrica).
  - Desvio estándar (SD).
  - Coeficiente de variación (CV).

# Validez del ensayo

---

- D.O. de los Controles positivos.
- D.O. de los Controles negativos.
- Diferencia entre Controles Positivos y Negativos.
  - Si el valor de los controles o la diferencia entre ellos están fuera del intervalo especificado, el ensayo no es válido, Se deberá revisar el procedimiento analítico antes de repetir la prueba.

# Muestreo

---

## Objetivo del análisis:

- Para determinar o establecer una condición.  
(prevalencia muy baja o muy alta)
- Realizar perfiles serológicos y compararlos con las líneas de base.
- Con fines diagnósticos.

# Tamaño de la muestra

---

- Al trabajar con muestras, usamos en primer término una estadística descriptiva, para luego si hacer inferencias sobre la población de la cual provienen.
- A menor prevalencia del parámetro buscado, mayor deberá ser el tamaño de la muestra, a fin de aumentar la probabilidad se encontrarlo.

# Probabilidad vs. Prevalencia

Prevalencia	1 %	2%	3%	4%
n	p	P	P	p
5	4.8 %	9.2 %	13.3 %	17.0 %
10	9,1 %	16.7 %	22.8 %	27.7 %
15	13.0 %	22.6 %	29.4 %	33.9 %
20	16.5 %	27.2 %	33.6 %	36.8 %
25	19.6 %	30.8 %	36.1 %	37.5 %

# Tamaño de la muestra

---

- A mayor variabilidad del parámetro evaluado, mayor deberá ser el tamaño de la muestra a fin de tener una confianza aceptable en nuestros inferencias.



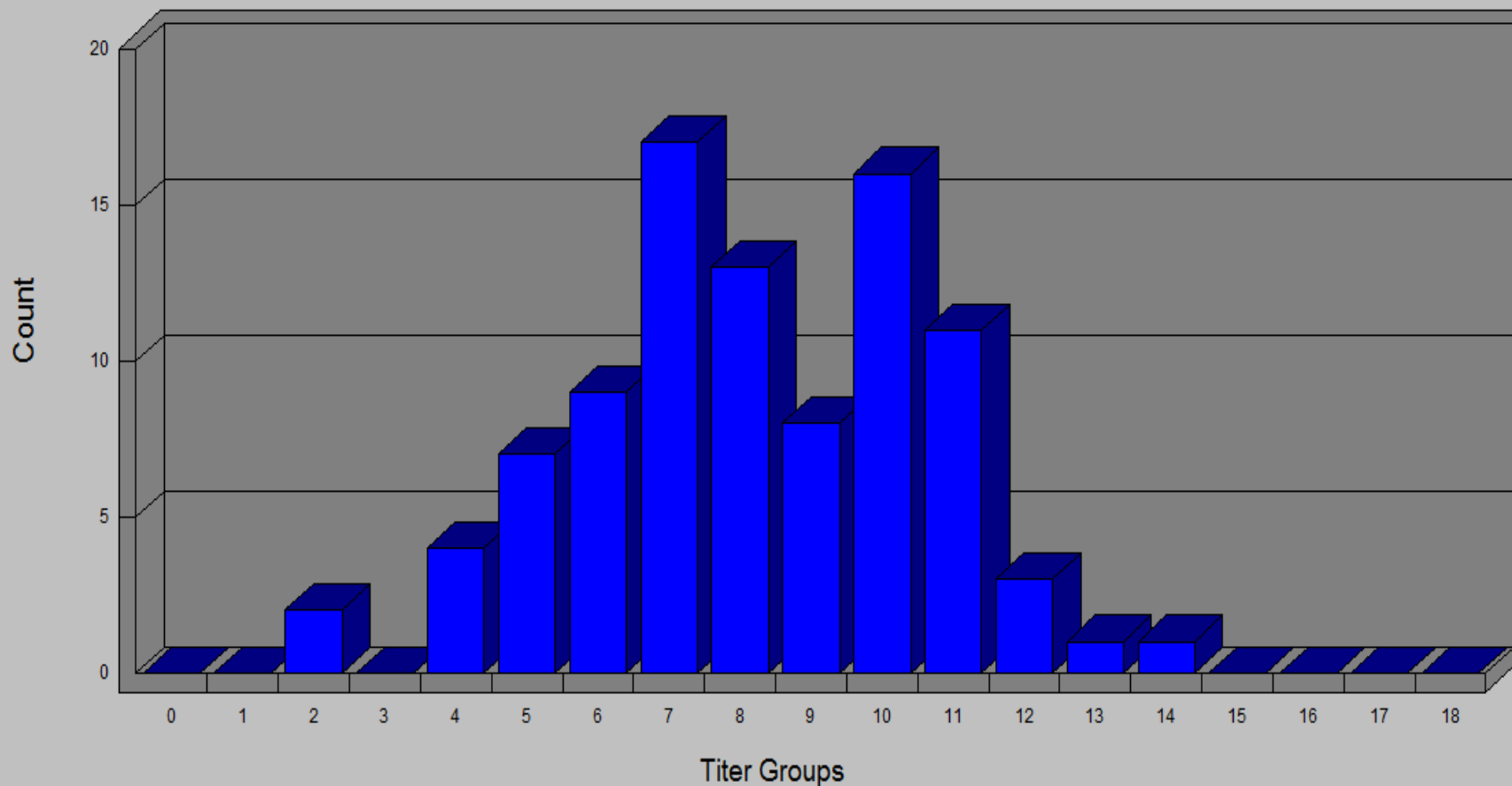
# Población Normal

✓ xChek - [Graph: 6/26/2016-006-IBD]

File Edit View Database Reports Options Window Help



### EJEMPLO B N=92 - IBD



P C  
Options  
Case Info  
Recalc  
Up  
Down

A EJEMPLO B N=92 92

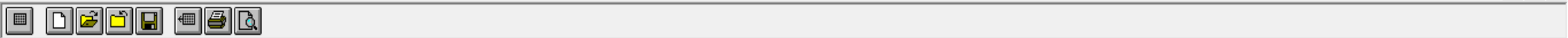
Ready with database C:\XCHEK\DEMO B.MDB

IBD Poultry Horiz

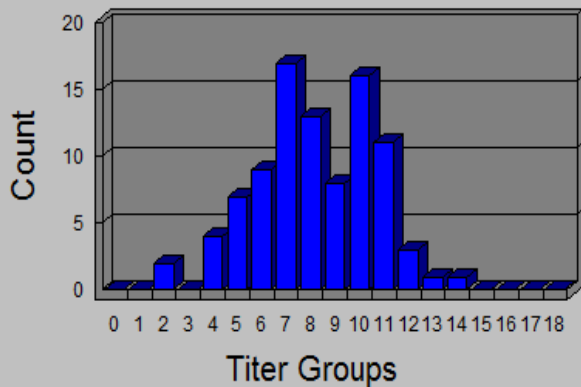
# Muestras n=23

## Población anormal

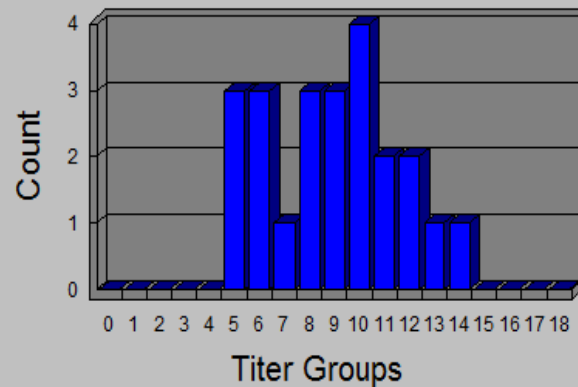
xChek - [Multiple Graphs] File Edit View Database Reports Options Window Help



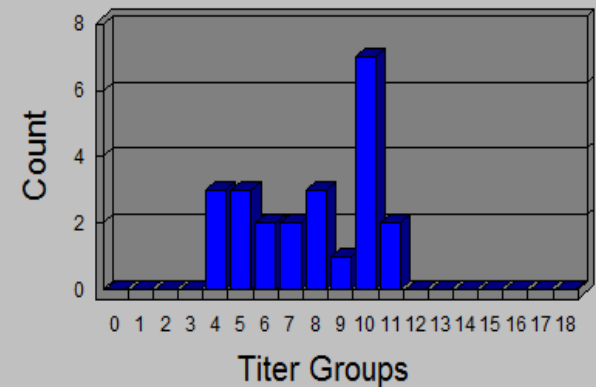
EJEMPLO 1B N=92 - IBD



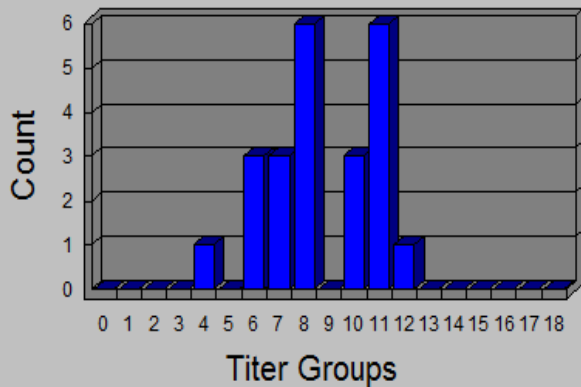
EJEMPLO B N=23 A - IBD



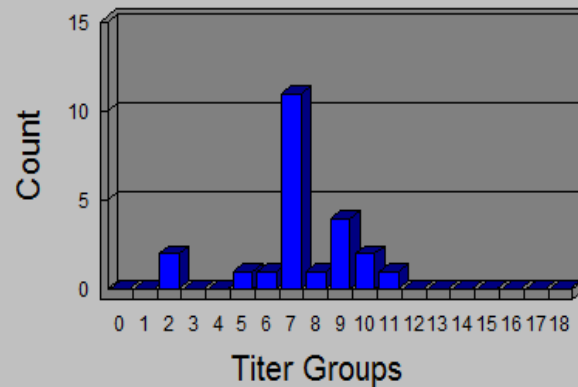
EJEMPLO B N=23 B - IBD



EJEMPLO B N=23 C - IBD



EJEMPLO B N=23 D - IBD



P C

Options

Case Info

Recalc

Up

Down

A	EJEMPLO 1B N=92	92	^
B	EJEMPLO B N=23 A	23	
C	EJEMPLO B N=23 B	23	^

Ready with database C:\XCHEK\DEMO B.MDB

IBD Poultry Horiz

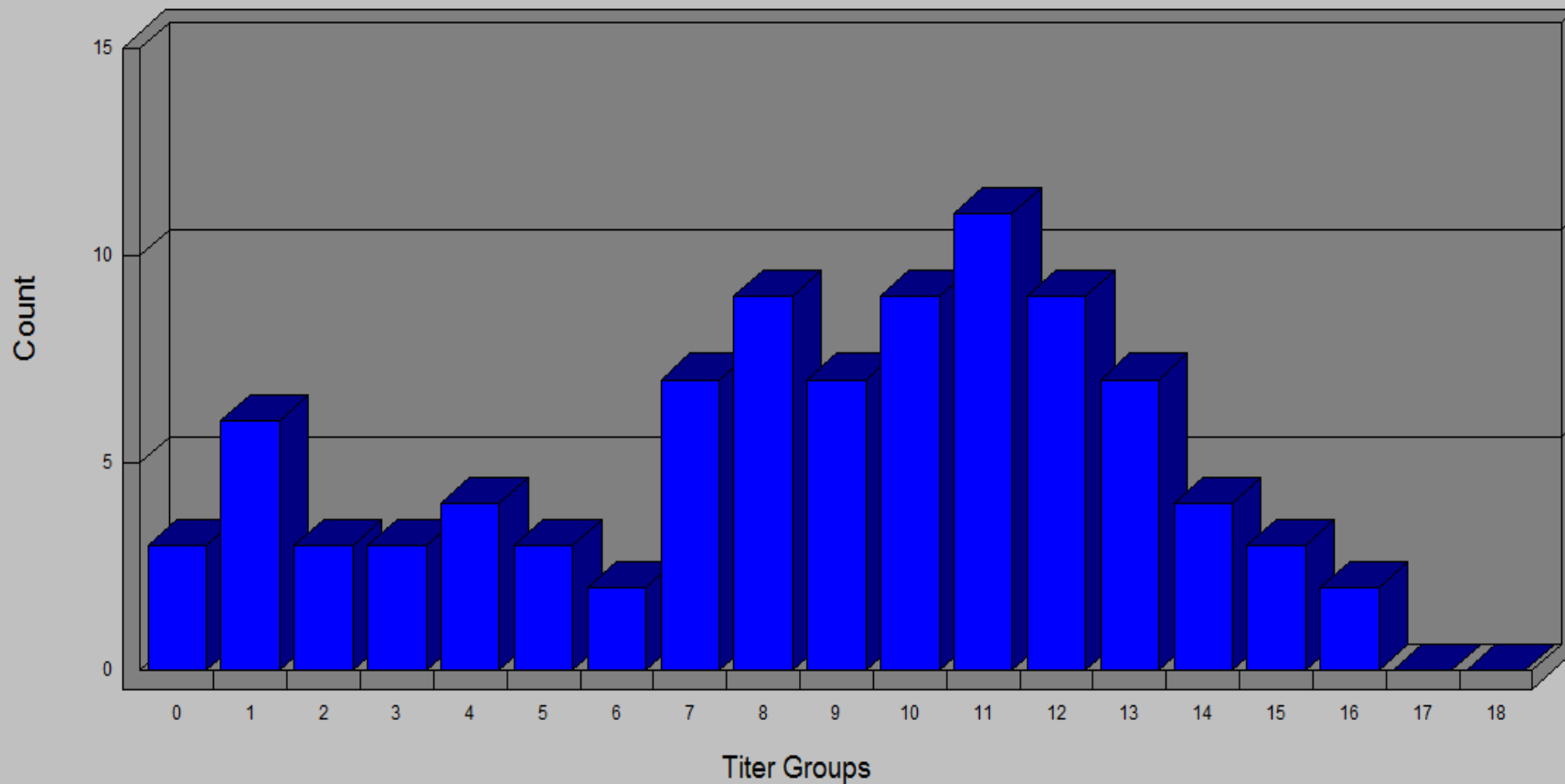
# Población atípica (?)

xChek - [Graph: 6/26/2016-009-IBD]

File Edit View Database Reports Options Window Help



EJEMPLO C - IBD



P C  
Options  
Case Info  
Recalc  
Up  
Down

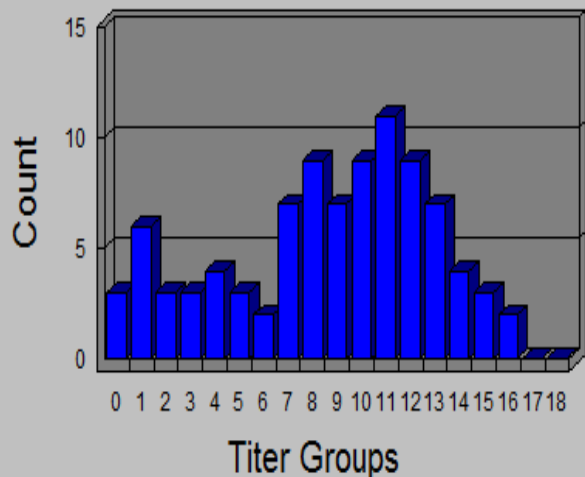
A EJEMPLO C 92

Ready with database C:\XCHEK\DEMO B.MDB

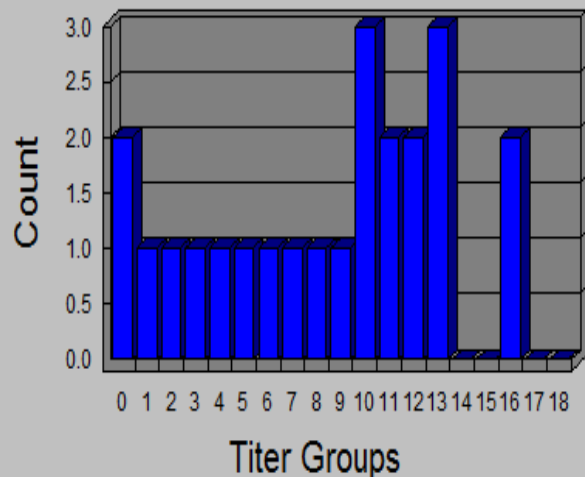
IBD Poultry Horiz



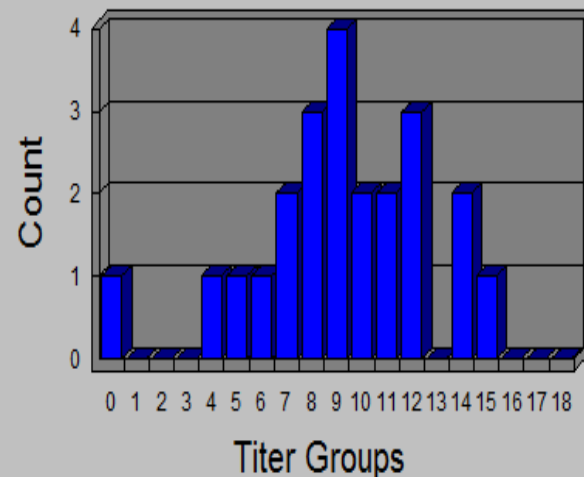
### EJEMPLO C - IBD



### EJEMPLO C N 23 A - IBD



### EJEMPLO C N 23 B - IBD



P C

Options

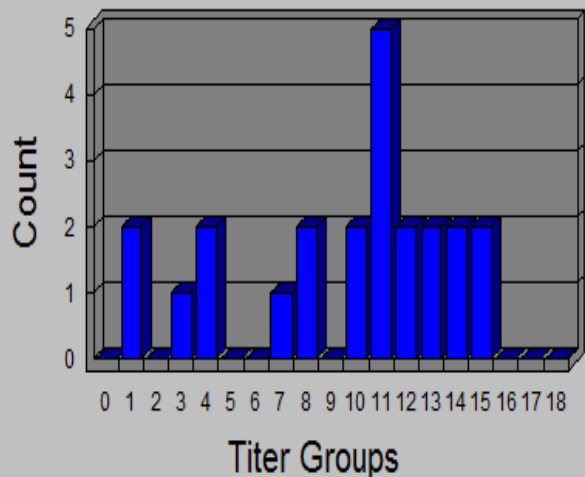
Case Info

Recalc

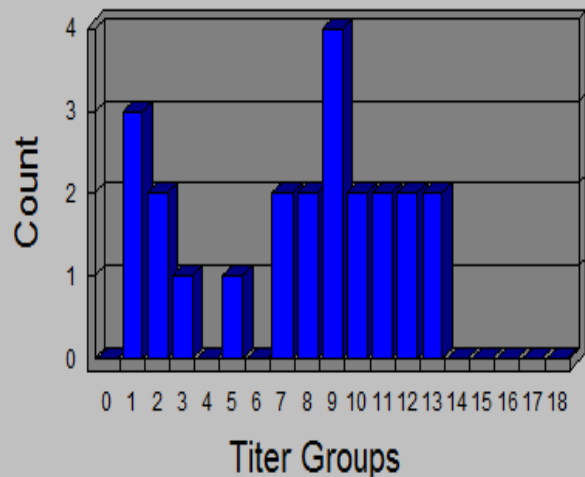
Up

Down

### EJEMPLO C N 23 C - IBD



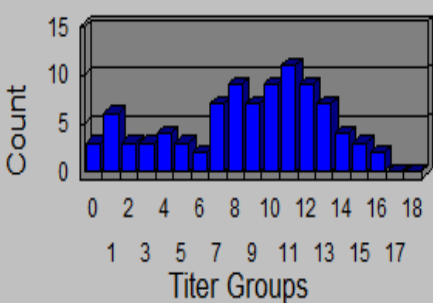
### EJEMPLO C N 23 D - IBD



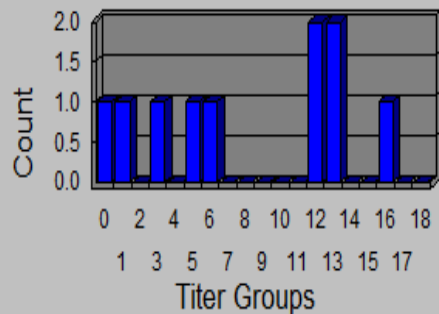
A	EJEMPLO C	92	^
B	EJEMPLO CN 23 A	23	
C	EJEMPLO CN 23 B	23	v



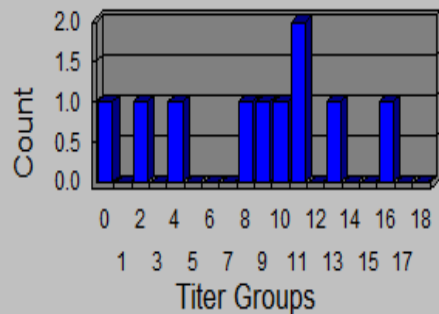
### EJEMPLO C - IBD



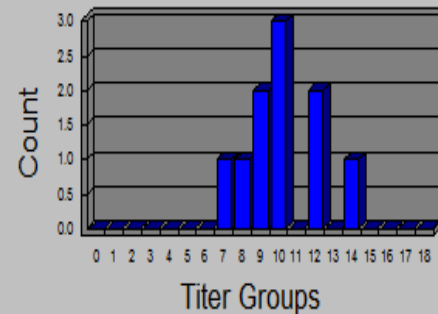
### EJEMPLO C N 10 A - IBD



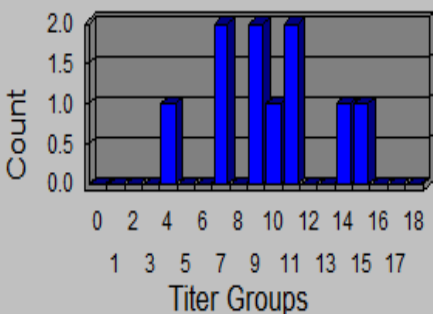
### EJEMPLO C N 10 B - IBD



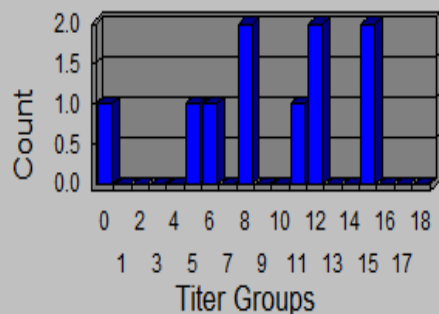
### EJEMPLO C N 10 C - IBD



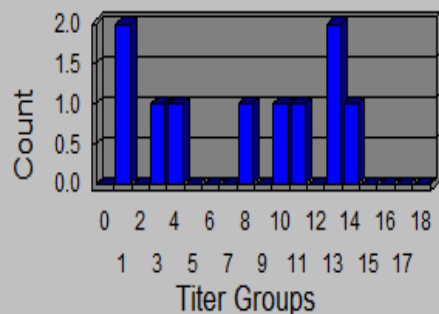
### EJEMPLO C N 10 D - IBD



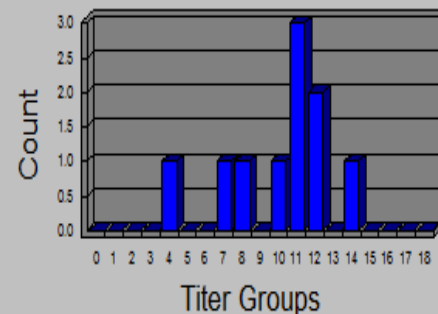
### EJEMPLO C N 10 E - IBD



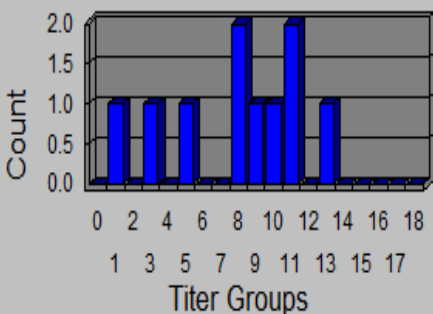
### EJEMPLO C N 10 F - IBD



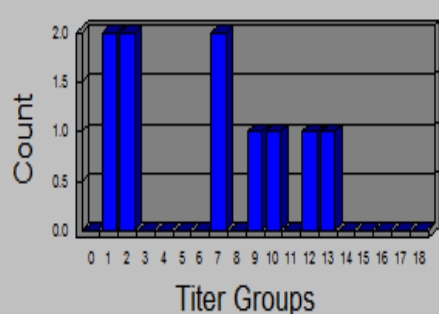
### EJEMPLO C N 10 G - IBD



### EJEMPLO C N 10 H - IBD



### EJEMPLO C N 10 I - IBD



P C

Options

Case Info

Recalc

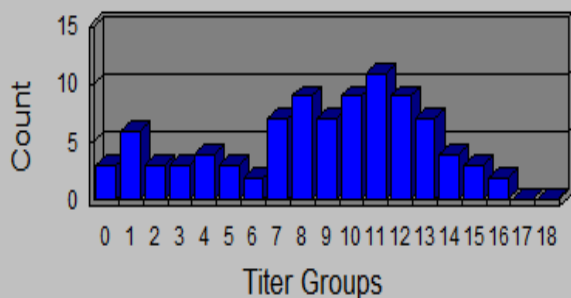
Up

Down

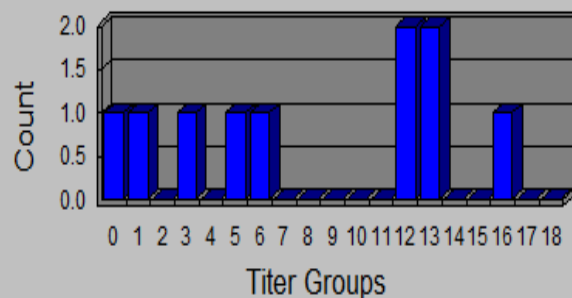
A	EJEMPLO C	92	^
B	EJEMPLO CN 10 A	10	
C	EJEMPLO CN 10 B	10	^



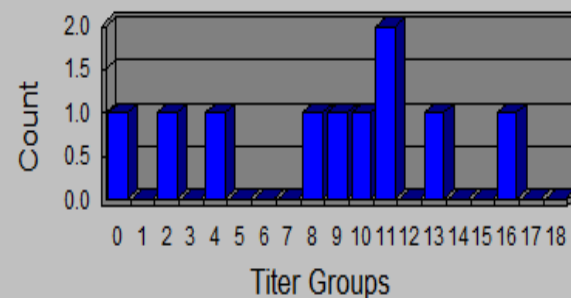
### EJEMPLO C - IBD



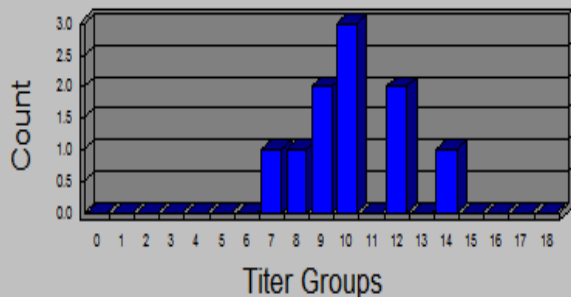
### EJEMPLO C N 10 A - IBD



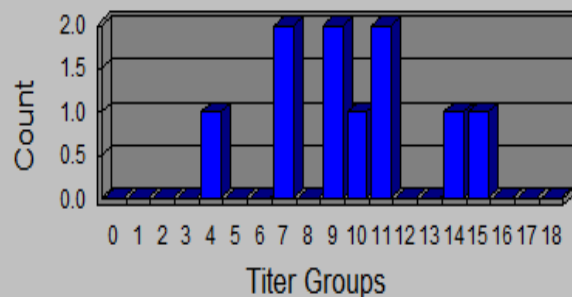
### EJEMPLO C N 10 B - IBD



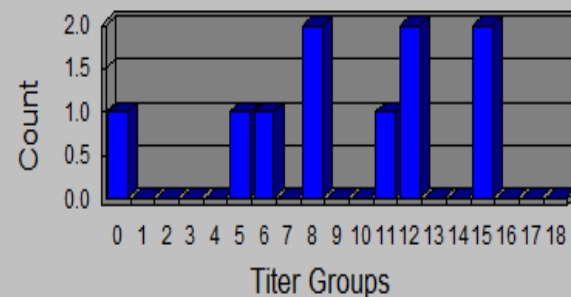
### EJEMPLO C N 10 C - IBD



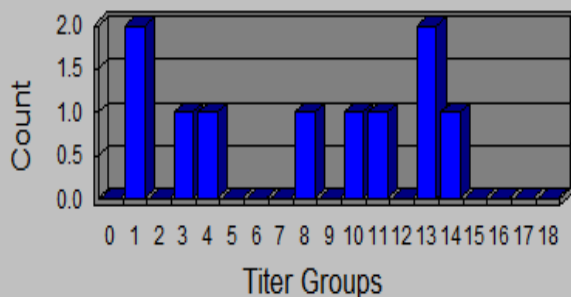
### EJEMPLO C N 10 D - IBD



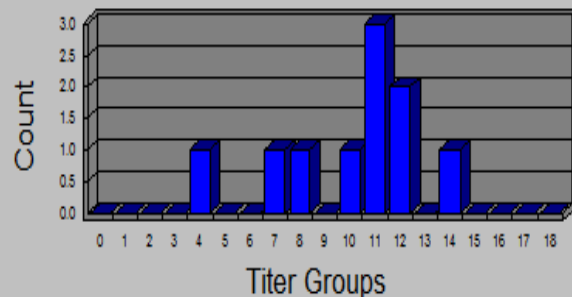
### EJEMPLO C N 10 E - IBD



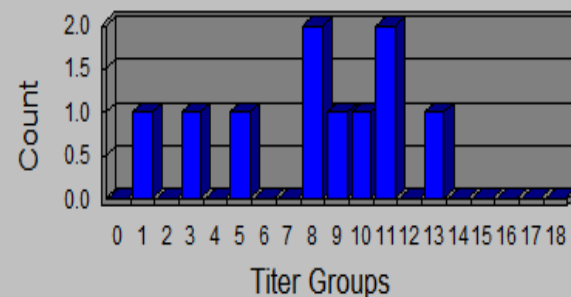
### EJEMPLO C N 10 F - IBD



### EJEMPLO C N 10 G - IBD



### EJEMPLO C N 10 H - IBD



P C

Options

Case Info

Recalc

Up

Down

A	EJEMPLO C	92	^
B	EJEMPLO CN 10 A	10	
C	EJEMPLO CN 10 B	10	^

# Muestreo

---

- En general se considera que 20-23 es un tamaño adecuado para un Lote o galpón.
- El muestreo debe ser aleatorio (excepto para diagnóstico), es decir todas las aves deben tener la misma probabilidad de ser elegidas.
- La aleatorización compensa los efectos de la varianza no controlable.

# Efecto del tamaño de muestra

---

Tamaño de la Muestra	Titulo Promedio Minimo	CV (%)	Titulo Promedio Maximo	CV (%)
46	2872	47	2894	48
23	2406	42	3382	51
15	2105	32	4019	52
10	1069	23	3849	59

Estudio realizado por el Dr. T. Lester, Mississippi State University



# Efecto del tamaño de muestra

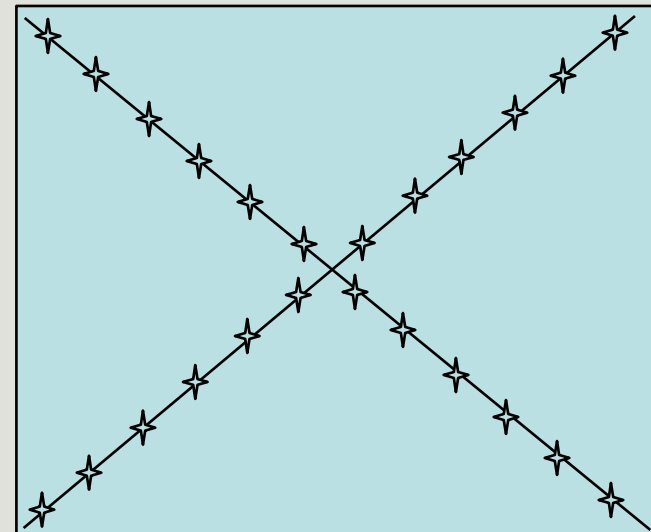
Muestras	CV (%) dentro del 20%	CV (%) por encima del 20%
46	100	0
23	100	0
15	66	33
10	56	44

Estudio realizado por el Dr. T. Lester, Mississippi State University

# Métodos de muestreo aleatorio

---

- Método de la diagonal:
- Muestra tomada sobre dos diagonales trazadas en la parvada.
- Para muestrear 24 aves:
  - Seleccionar 12 aves en cada diagonal.
  - Seleccionar aves a intervalos regulares: p. ej. en una diagonal de 24 m, seleccione un ave cada 2 m.



✦ Tome muestras aquí

# Métodos de muestreo aleatorio

---

- **Muestreo en baterías o jaulas:**
- Enumere las baterías/jaulas.
- Use un generador de números aleatorios para obtener 24 números al azar.
- Seleccione los números de las baterías/jaulas generados al azar.
- Muestree un ave de cada batería/jaula seleccionada.

# Manipulación de las muestras

---

- La calidad de la muestra puede afectar los resultados del ensayo.
- Evite muestras excesivamente hemolizadas o extremadamente lipémicas.



Tome la muestra de esta zona

# Manipulación de las muestras

---

- Remover el coágulo y conservar las muestras de suero a 2–4°C durante un máximo de 3–5 días.
- Conservar las muestras de suero congeladas a -20°C durante un máximo de 30 días.
- Evite congelar y descongelar repetidamente, no lo haga más de 3–5 veces.

# Plan de monitoreo

Tipo de ave	Plan
<b>Reproductoras</b>	<ul style="list-style-type: none"><li data-bbox="730 492 1843 597">❑ Tomar muestras a los 3–4 días para medir niveles de anticuerpos maternos.</li><li data-bbox="730 662 1692 760">❑ <i>Para evaluar la respuesta inmunitaria a las vacunas:</i><ul style="list-style-type: none"><li data-bbox="835 833 1785 938">▪ Tomar muestras 3-4 semanas después de la vacunación con vacunas vivas,</li><li data-bbox="835 979 1730 1076">• Tomar muestras 6 semanas después de la vacunación con vacunas inactivas</li></ul></li><li data-bbox="730 1117 1535 1279">❑ Tomar muestras a intervalos de 4-8 semanas Para realizar perfiles serológicos.</li></ul>

# Plan de monitoreo

Tipo de ave	Plan
<b>Gallinas ponedoras</b>	<ul style="list-style-type: none"><li data-bbox="730 492 1843 597">❑ Tomar muestras a los 3–4 días para medir niveles de anticuerpos maternos.</li><li data-bbox="730 662 1692 760">❑ <i>Para evaluar la respuesta inmunitaria a las vacunas:</i><ul style="list-style-type: none"><li data-bbox="835 833 1780 938">▪ Tomar muestras 3-4 semanas después de la vacunación con vacunas vivas,</li><li data-bbox="835 979 1728 1076">• Tomar muestras 6 semanas después de la vacunación con vacunas inactivas</li></ul></li><li data-bbox="730 1117 1535 1336">❑ Tomar muestras a intervalos de 4-8 semanas Para realizar perfiles serológicos (y compararlos con las líneas de base)</li></ul>

# Plan de monitoreo

Tipo de ave	Plan
<b>Pollos parrilleros</b>	<ul style="list-style-type: none"><li data-bbox="737 597 1692 753">○ Tomar muestras a los 3–4 días para medir las concentraciones de anticuerpos maternos.</li><li data-bbox="737 797 1854 953">○ Tomar muestras a las 3-4 semanas, según el programa de vacunación y el riesgo de exposición en el campo.</li><li data-bbox="737 997 1749 1214">○ Tomar muestras antes del sacrificio hacia las 6 semanas de vida para evaluar la respuesta a las vacunas, inmunocompetencia y la posible exposición a campo.</li></ul>



# Monitoreo

---

- Monitorear periódicamente las parvadas. Realizar perfiles serológicos y compararlos con las líneas de base.
- La línea de base variará según la línea genética, plan de vacunación y manejo.
- El título medio por sí sólo no es muy útil, a menos que conozcamos el grado de variabilidad (CV%) y los valores normales esperados.

# Media Aritmética:

---

$$A = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n a_i$$

- Título medio de las aves analizadas = título aproximado de un ave promedio de una parvada.
- A mayor tamaño de la muestra, mayor confiabilidad del promedio.

# Media Geométrica:

---

$$\left( \prod_{i=1}^n a_i \right)^{1/n} = \sqrt[n]{a_1 a_2 \cdots a_n}.$$

- Esta medida de resumen le quita peso a los valores extremos.

# Desvío Standard:

---

$$s = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}.$$

- Calcula el desvío promedio de los valores respecto de la media, en las unidades de origen,

# Coeficiente de Variación:

---

$$CV \% = SD/A$$

- Calcula la variabilidad promedio, expresada en % de desviación de los valores respecto de la media.
- Una parvada con un valor bajo de CV (<40%) está formada por aves que presentan respuestas similares y uniformes.
- Una parvada con un valor elevado de CV (>40%) tiene más variabilidad de lo normal.

# Variabilidad en los títulos

---

- Debido a la variabilidad propia del parámetro.
- Debido al Tamaño de la muestra.
- Debido a errores de técnica:
  - Muestreo, almacenamiento o manipulación inadecuados
  - Técnica de analítica inadecuada
  - Instrumentos inadecuados

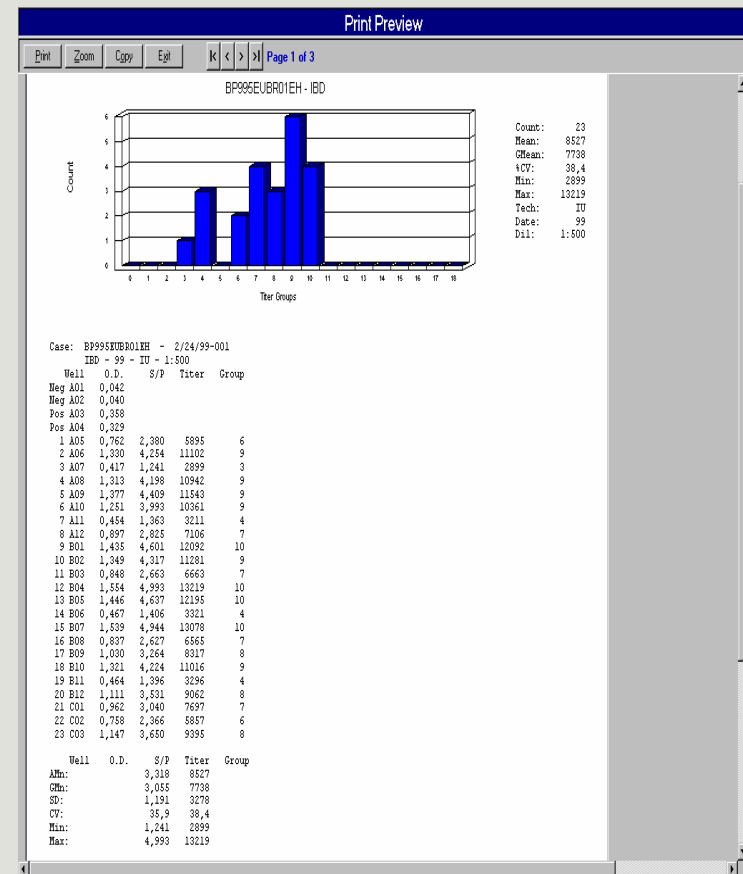
# xChek Software

---

- Permite monitorear el nivel de respuesta de la parvada a la vacunación.
- Permite determinar la concentración de anticuerpos maternos en los pollitos para seleccionar el momento óptimo para la vacunación.
- Permite realizar perfiles de anticuerpos en parvadas de reproductoras.
- Permite monitorear diferentes parvadas y comparar con las líneas de base.
- Permite determinar la naturaleza y el momento de la infección a campo.

# xChek Software

- Proporciona los siguientes parámetros estadísticos:
  - Número de muestras
  - Densidad óptica, relación S/P, título. grupo de título.
  - Media aritmética.
  - Media geométrica.
  - Desviación estándar.
  - Coeficiente de variación.



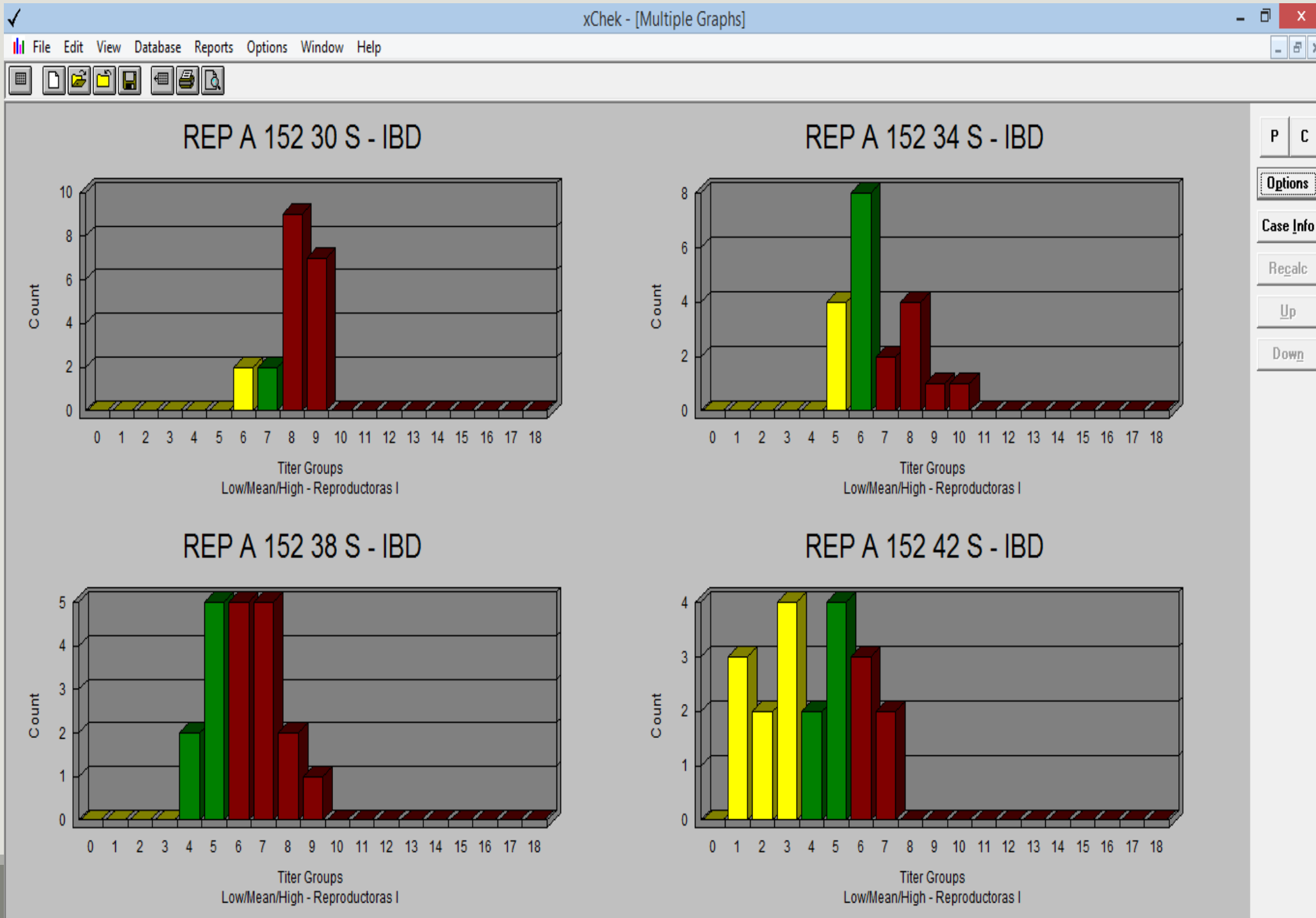


# Establezca líneas de base

---

- La interpretación correcta de los resultados requiere de experiencia e idoneidad. El seguimiento y almacenamiento de los datos a lo largo del tiempo, resulta de gran ayuda.
- Realice seguimientos serológicos periódicos para determinar los valores de título (media y CV) y compararlos con los esperados (línea base) para el tipo de parvada, edad, plan de vacunas, entorno y manejo.
- Las desvíos con respecto a la línea de base son llamados de atención. Muchas veces detectan lo que no vemos clínicamente (desafíos, inmunosupresión, fallas vacunales).

# Línea de base reproductoras



# Línea de base reproductoras

xChek Print Preview

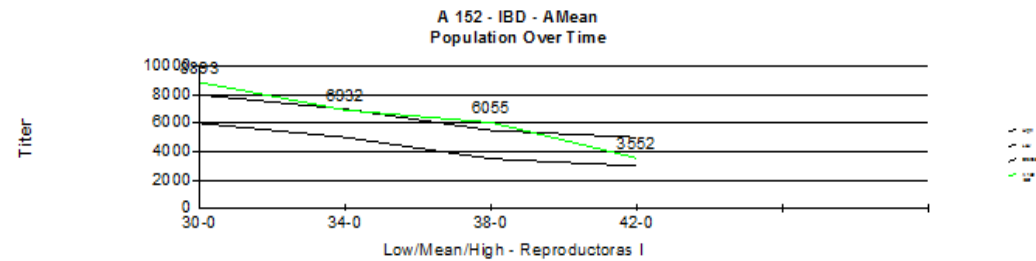
File

Print... 99% 1/1 Back Forward

IDEXX Laboratories, Inc.  
Westbrook, ME 04092  
USA  
12/10/2014



## Multiple Case Graphs



Code	Assay	Date	Count	A Mean	CV	Age	Case	Comment
A	IBD	19/01/11	20	8893	19,1	30-0	REP A 152 30 S	
B	IBD	19/01/11	20	6932	35,8	34-0	REP A 152 34 S	
C	IBD	19/01/11	20	6055	30,8	38-0	REP A 152 38 S	
D	IBD	19/01/11	20	3552	57,1	42-0	REP A 152 42 S	

# Línea de base reproductores

xChek Print Preview

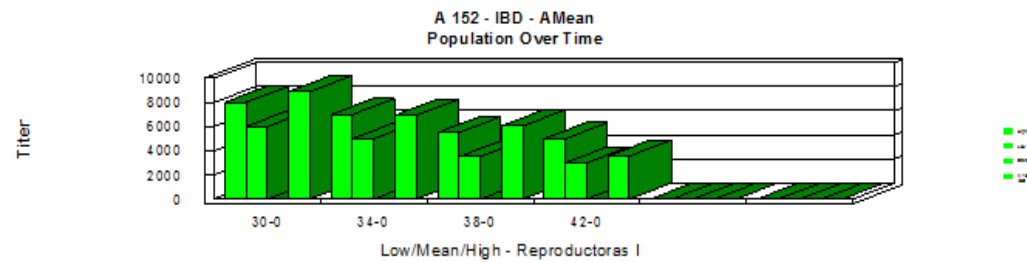
File

Print... 99% 1/1 Back Forward

IDEXX Laboratories, Inc.  
Westbrook, ME 04092  
USA  
12/10/2014



## Multiple Case Graphs



Code	Assay	Date	Count	AMean	CV	Age	Case	Comment
A	IBD	19/01/11	20	8893	19,1	30-0	REP A 152 30 S	
B	IBD	19/01/11	20	6932	35,8	34-0	REP A 152 34 S	
C	IBD	19/01/11	20	6055	30,8	38-0	REP A 152 38 S	
D	IBD	19/01/11	20	3552	57,1	42-0	REP A 152 42 S	

# Línea de base - faena parrilleros



# Utilización de las líneas de base

---

- La línea de base es específica para la categoría, edad, plan vacunal etc.
- Los datos no son aplicables a otras parvadas, si el concepto.
- Compare los nuevos datos obtenidos con su línea de base.
- Valores de títulos altos indican exposición.
- Valores de títulos bajos pueden indicar una mala calidad de las vacunas, una administración inadecuada, o inmunosupresión.

# Valores de referencia IDEXX (orientativo)

Ensayo	Tipo de vacuna	Titulo promedio (semanas tras la vacunación)	Titulo promedio Pollitos de un día
Encefalomiелitis aviar	Viva	3000–4000 (5–8 semanas)	—
Virus de la bronquitis infecciosa	Viva	1000–4000 (3-5 semanas)	—
	Inactivada	5000-16000 (5-8 semanas)	2000–6000
Enfermedad de la bursa	Viva	1000-4000 (3-5 semanas)	—
	Inactivada	4000-20000 (5-8 semanas)	3000–10000
Virus de la enfermedad de Newcastle	Viva	1000-4000 (3-5 semanas)	—
	Inactivada	10000-32000 (5-8 semanas)	5000–15000
REO	Viva	2000-4000 (3-5 semanas)	—
	Inactivada	4000-10000 (5-8 semanas)	3000–9000

Basada en dos dosis iniciales de vacuna viva y una dosis de refuerzo inactivada a las 16–18 semanas, dilución 1:500. Las concentraciones pueden variar en función del tipo de ave, del tipo de vacuna, del programa de vacunación etc.

# Ejemplo: Seguimiento de un programa de vacunación

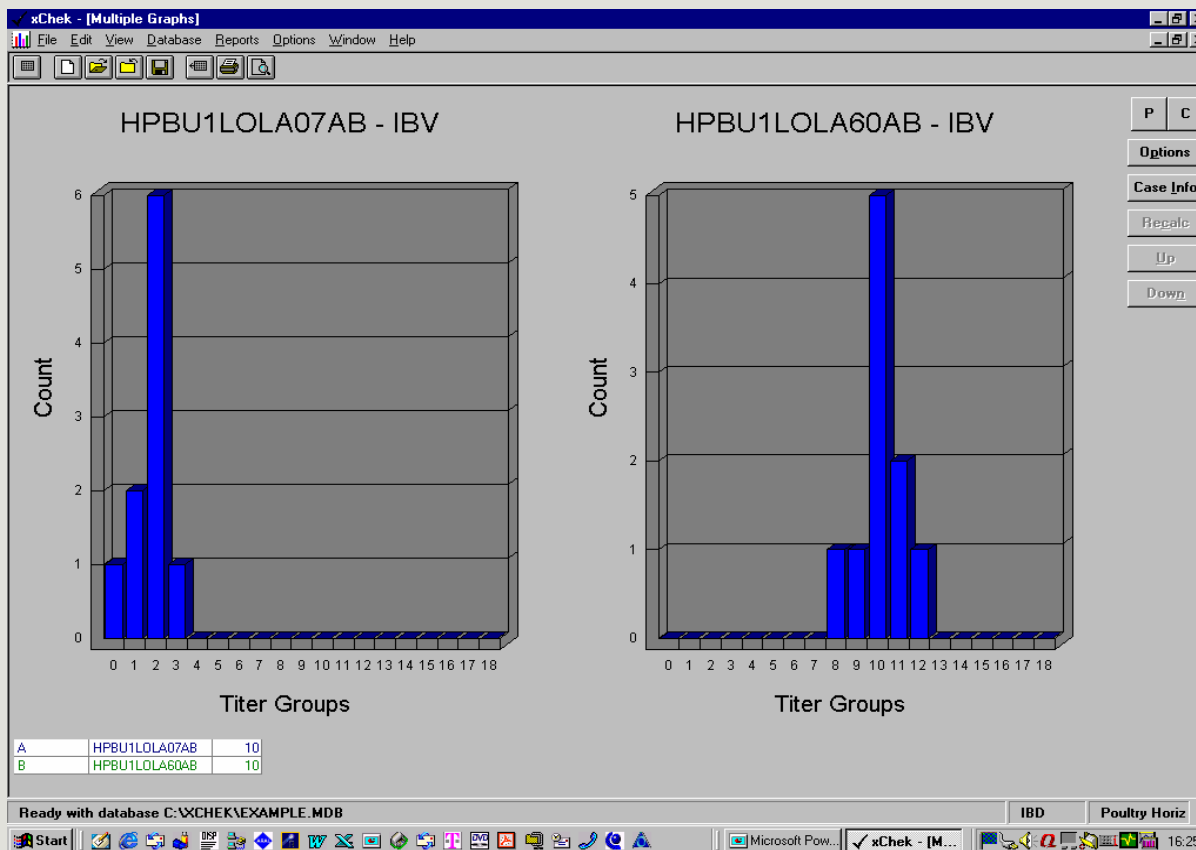


Gráfico de la izquierda:  
Respuesta a la vacuna con ausencia o sólo una ligera exposición de campo

Gráfico de la derecha:  
Respuesta a la vacuna con exposición de campo



# Conclusiones:

---

- Emplee métodos de muestreo estadísticamente válidos.
- Utilice técnicas analíticas estandarizadas y una correcta manipulación de muestras.
- Establezca sus líneas de base.
- Adopte un plan de monitoreo.

**¡Muchas gracias!**