

manual

VIGILANCIA DE LA INFLUENZA AVIAR ALTAMENTE PATÓGENA EN LAS AVES SILVESTRES

toma de muestras de aves sanas, enfermas y muertas



Imágenes de la portada

Izquierda: FAO/S. Newman

Centro: cortesía de Wildlife Conservation Society, K. Smith

Derecha: cortesía del Zoológico de Taronga, K. Rose

VIGILANCIA DE LA INFLUENZA AVIAR ALTAMENTE PATÓGENA EN LAS AVES SILVESTRES

toma de muestras de aves sanas, enfermas y muertas

Karrie Rose

Australian Registry of Wildlife Health,
Zoológico de Taronga, Sydney (Australia)

Scott Newman

Wildlife Conservation Society,
Wildlife Health Center,
Programa Veterinario de Campo,
Nueva York (Estados Unidos de América)
Servicio de Sanidad Animal,
Organización de las Naciones Unidas para
la Agricultura y la Alimentación, Roma (Italia)

Marcela Uhart

Wildlife Conservation Society,
Wildlife Health Center,
Programa Veterinario de Campo,
Nueva York (Estados Unidos de América)

Juan Lubroth

Servicio de Sanidad Animal,
Organización de las Naciones Unidas para
la Agricultura y la Alimentación, Roma (Italia)

Las denominaciones empleadas en este producto informativo y la forma en que aparecen presentados los datos que contiene no implican, de parte de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, juicio alguno sobre la condición jurídica o nivel de desarrollo de países, territorios, ciudades o zonas, o de sus autoridades, ni respecto de la delimitación de sus fronteras o límites. La mención de empresas o productos de fabricantes en particular, estén o no patentados, no implica que la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación los apruebe o recomiende de preferencia a otros de naturaleza similar que no se mencionan. Las opiniones expresadas en esta publicación son las de su(s) autor(es), y no reflejan necesariamente los puntos de vista de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

Todos los derechos reservados. Se autoriza la reproducción y difusión de material contenido en este producto informativo para fines educativos u otros fines no comerciales sin previa autorización escrita de los titulares de los derechos de autor, siempre que se especifique claramente la fuente. Se prohíbe la reproducción del material contenido en este producto informativo para reventa u otros fines comerciales sin previa autorización escrita de los titulares de los derechos de autor. Las peticiones para obtener tal autorización deberán dirigirse al Jefe de la Subdivisión de Políticas y Apoyo en Materia de Publicación Electrónica de la División de Comunicación de la FAO, Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italia, o por correo electrónico a copyright@fao.org

Índice

Agradecimientos	v
Introducción	1
CAPÍTULO 1	
Signos clínicos de la enfermedad infecciosa	3
CAPÍTULO 2	
Manipulación de aves vivas	5
Toma de muestras de sangre	5
Sacrificio	6
CAPÍTULO 3	
Recolección de aves muertas	9
Estrategia de muestreo de la influenza aviar H5N1	10
CAPÍTULO 4	
Protocolo para la realización de necropsias en las aves	13
Protección e higiene laboral durante la práctica de la necropsia	13
Protocolo para la realización de necropsias a las aves	14
Examen externo	15
Examen interno	15
CAPÍTULO 5	
Toma de muestras durante la necropsia	21
CAPÍTULO 6	
Toma de muestras	23
Detalles sobre las muestras que se deben tomar durante la necropsia	23
CAPÍTULO 7	
Técnicas de muestreo	25
Procedimiento de muestreo	26
CAPÍTULO 8	
Manipulación y transporte de las muestras	29
Hisopos y medios de transporte viral	29
Suero, plasma y tejidos frescos	29
Tejidos fijados con formalina	30
Transporte de las muestras	30

CAPÍTULO 9	
Diagnos	33
Diagnos de la influenza aviar H5N1 en el laboratorio	33
Pruebas sobre el terreno (en el punto de atención)	34
Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR)	35
CAPÍTULO 10	
Eliminación de cadáveres	37
Sobre el terreno	37
CAPÍTULO 11	
Desinfección	39
CAPÍTULO 12	
Recomendaciones sobre protección personal	41
Anexo 1: Registro de muestreo sobre aves enfermas o muertas	45
Anexo 2: Red OIE/FAO (OFFLU) y laboratorios de referencia para la influenza aviar	47
Anexo 3: Ilustraciones de la patología general	51

Agradecimientos

Parte de la información de este manual es una adaptación realizada por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación en colaboración con Wildlife Conservation Society y el Zoológico de Taronga de la publicación “An Early Detection System for Highly Pathogenic H5N1 in Wild Migratory Birds – Interagency Strategic Plan” (Sistema de pronta detección del virus H5N1 altamente patógeno en la aves silvestres migratorias – Plan estratégico interinstitucional) de USGS National Wildlife Health Center (disponible en el sitio web <http://www.nwhc.usgs.gov/publications/other/index.jsp>).

Se agradece al Gobierno de Australia su constante apoyo.

Se agradece de forma especial la ayuda de Phil Harris y Cecilia Murguía en la edición de este manual.

Introducción

Este documento tiene como objetivo proporcionar orientaciones básicas sobre los métodos de toma de muestras que se deben seguir para la supervisión de la fauna silvestre o para la investigación de la morbilidad y la mortalidad. Entre los temas tratados se incluyen la manipulación de animales y los métodos adecuados para la toma y el transporte de las muestras diagnósticas relacionadas con la investigación de enfermedades aviarias tales como la influenza aviar, el virus del Nilo occidental o la enfermedad de Newcastle. Dado que la influenza aviar altamente patógena H5N1 (IA H5N1)¹ supone un riesgo importante para la salud humana, también se incluyen en este manual los procedimientos que se deben seguir para evitar la exposición mientras se trabaja con animales vivos o muertos.

Si está realizando tareas de vigilancia de la fauna silvestre en un país en el que se ha confirmado previamente la presencia del virus de la influenza aviar H5N1 altamente patógena (IA H5N1) en la fauna silvestre, o si planea realizar una investigación en un lugar donde el virus de la influenza aviar H5N1 sea sospechoso de causar la enfermedad o la muerte de la fauna silvestre, siga las recomendaciones de protección personal que se detallan en este manual.

Pese a que no todas las especies infectadas muestran necesariamente signos de la enfermedad, se ha demostrado que las cepas del virus de la IA H5N1 presentes actualmente en Asia, Europa y África causan morbilidad y mortalidad en un gran número de especies. La aplicación de un programa de seguimiento eficaz en la detección del virus de la influenza aviar H5N1 se conseguirá combinando la vigilancia activa orientada (captura y toma de muestras de aves libres aparentemente sanas), la vigilancia pasiva (que incluya pruebas patológicas a las presas cazadas en centros de rehabilitación y zoológicos, y programas de seguimiento de las aves varadas) y la investigación sistemática de la morbilidad y la mortalidad de las aves silvestres. Es importante comprender que la toma de muestras adecuada de animales silvestres muertos es de suma importancia, ya que la influenza aviar H5N1 es únicamente una de las muchas enfermedades o problemas que pueden tener como resultado la muerte de un gran número de aves silvestres.

Este manual se basa en las siguientes suposiciones:

- 1) todas las investigaciones serán realizadas por personal que disponga de la formación adecuada;

¹ La expresión "influenza aviar altamente patógena" se reserva normalmente para la virulencia característica que muestra el virus de la influenza aviar en el pollo y, por lo tanto, no se debe utilizar la expresión en referencia a otras especies (aves o mamíferos). En este manual, al virus de la influenza aviar altamente patógena H5N1 que ha causado brotes en las aves de corral y en otras especies en Asia y Europa (2003-2006) se le llama IA H5N1.

- 2) se tomarán todas las precauciones relativas a bioseguridad y salud humana;
- 3) se obtendrán los permisos del organismo veterinario del gobierno responsable antes de realizar cualquier investigación;
- 4) todas las actividades de investigación de brotes de enfermedad serán coordinadas con representantes de la FAO y la OIE.

Si desea obtener información sobre las oficinas de la FAO en el mundo, visite:

http://www.fao.org/countryprofiles/physical_presence.asp?lang=es&

Si desea ver la lista de los Estados Miembros de la OIE y los delegados oficiales, visite:

http://www.oie.int/esp/OIE/PM/es_PM.htm

Si desea información sobre las Representaciones Regionales de la OIE, visite:

http://www.oie.int/esp/OIE/organisation/es_RR.htm

Capítulo 1

Signos clínicos de la enfermedad infecciosa

Se considera que las aves acuáticas y las aves costeras son reservorios naturales para todos los subtipos de virus de la influenza aviar y que, en general, la mayor parte de los subtipos no provocan —o lo hacen muy raramente— enfermedades a la fauna silvestre. Sin embargo, la influenza de tipo A ha sufrido varias derivas y mutaciones genéticas resultantes en la cepa vírica de la IA altamente patógena H5N1, que causa morbilidad y mortalidad en muchas especies silvestres. Pese a que se han iniciado tareas de vigilancia, es necesario investigar qué especies silvestres pueden ser potencialmente vectores y, por lo tanto, transportar y diseminar la enfermedad sin desarrollarla ni morir.

Los signos clínicos de muchas enfermedades de las aves, incluida la IA H5N1, pueden ser:

- muerte súbita;
- diarrea;
- regurgitación;
- estornudos;
- adelgazamiento sin explicación;
- llagas abiertas;
- pus (claro o turbio) en la boca, fosas nasales, oídos o cloaca;
- hinchazón generalizada o decoloración violácea de los tejidos de la cabeza (incluida la conjuntiva);
- plumas anormales: constricciones anulares o hemorragias del astil, o vainas cerosas retenidas;
- comportamiento anormal - caídas, inclinación de la cabeza, giro de la cabeza y cuello, marcha en círculos, parálisis, accesos;
- problemas de locomoción – imposibilidad de mantenerse en pie o de mover las alas normalmente, incluso sin signo de heridas traumáticas;
- mortalidad masiva o alta mortalidad en grupos de aves determinados (mortalidad inesperada con respecto a la historia natural de la especie).

Si se observa alguno de estos signos en especies de aves silvestres libres, sea en pocos o muchos ejemplares, póngase en contacto con las autoridades pertinentes encargadas de la fauna silvestre, con los servicios veterinarios o con los representantes de la FAO o la OIE, y estudie la posibilidad de realizar una investigación sobre el brote de la enfermedad.

Los primeros indicios de que se va a producir una gran incidencia de la mortalidad en la fauna silvestre suelen ser los informes de personas que han encontrado aves enfermas. Dadas las consecuencias económicas y políticas de la aparición de la IA H5N1 en un lugar donde antes no la había, es siempre mejor tener noticias cuanto antes de su aparición. Así se podrán tomar las medidas necesarias y quizás prevenir la expansión de la enfermedad al ganado y otras especies silvestres y, además, la situación se podrá gestionar de forma más económica que si se debe hacer frente a un brote de la enfermedad a gran escala.

Se debe informar a los zoológicos, reservas de vida silvestre, centros de rehabilitación e instituciones similares que albergan aves en entornos abiertos de los signos clínicos cuya aparición deben supervisar en sus aves silvestres. En el caso de que se observe alguno de estos signos clínicos se deberán seguir los procedimientos adecuados de aislamiento de las aves enfermas, solicitar al personal veterinario que examine las aves inmediatamente, seguir los procedimientos adecuados para la toma de muestras e información (véanse el Capítulo 4 y el Anexo 1) y transmitir la información al servicio veterinario del gobierno pertinente—cuyo director será habitualmente el delegado de la OIE— o a un representante de la FAO o la OIE. Son también muy útiles para la investigación de la enfermedad de la fauna silvestre las fotografías y vídeos de los animales (vivos y con signos clínicos o muertos).

Si estas instalaciones reciben a menudo aves silvestres enfermas o heridas que presentan los signos clínicos descritos, se deberá aislar de forma inmediata a las aves para prevenir la expansión de la enfermedad a los ejemplares propios de las instalaciones o a otras aves que estén siendo curadas. Es muy importante preguntar a las personas que informaron en un primer momento de los casos de aves enfermas si vieron otras aves con los mismos signos clínicos. Esto es necesario para poder determinar si se está produciendo un brote de mayor importancia en el mismo lugar. En todos los casos, sea que las aves propias de las instalaciones enfermen o que terceras personas traigan un ave enferma a las instalaciones, se debe informar a los servicios veterinarios del gobierno de las especies afectadas y de los signos clínicos observados para que puedan actualizar los historiales médicos.

Estos historiales deben incluir los datos de contacto de la persona que ha traído las aves a las instalaciones o de las personas que hayan informado de la presencia de aves enfermas fuera de las instalaciones. Así se facilitará la investigación epidemiológica posterior en caso de que los análisis practicados concluyan que la IA H5N1 u otra enfermedad documentada está presente en las aves y se podrá proporcionar a dichas personas, en caso de que sea necesario, información sanitaria sobre la posible exposición al virus.

Capítulo 2

Manipulación de aves vivas

Si para investigar el brote de una enfermedad se deben manipular animales tanto sanos como moribundos, se comenzará por los aparentemente sanos antes de tocar los enfermos o los muertos. Se utilizarán prendas protectoras, guantes de látex, mascarilla y protección ocular al examinar las aves afectadas (véase el Capítulo 12). No se fumará, comerá ni hablará por teléfono móvil al manipular las aves (vivas o muertas). Asegúrese de haberse lavado las manos y haber desinfectado o desechado el instrumental y las prendas antes de salir del lugar. Se podrá encontrar más información sobre protección personal en el Capítulo 12.

Antes de planificar la captura de aves silvestres, consulte al gobierno local o a los directores de los parques de fauna silvestre o de las áreas protegidas si es necesario obtener permisos para la captura y toma de muestras de estos animales. Podría ser necesaria la obtención de permisos adicionales para la manipulación de especies amenazadas. Las aves libres pueden ser capturadas por numerosos medios, como redes, trampas o haces de luz. Téngase en cuenta que la vigilancia de los virus de la influenza aviar y de otras enfermedades infecciosas, especialmente cuando no hay un brote de la enfermedad o aves muertas en la zona, se puede realizar tomando muestras de aves vivas sanas.

Una vez se han capturado las aves silvestres, es importante proporcionarles un ambiente bien ventilado, fresco y tranquilo para evitar que pasen calor y reducir su estrés. Si es posible, se cubrirá la cabeza del ave con una tela fina al manipularla para reducir su estrés visual.

TOMA DE MUESTRAS DE SANGRE

La sangre se puede extraer de la vena yugular (en el lado derecho del cuello del ave), de la vena braquial/ulnar (la vena alar) (véase la Figura 1) o de la vena metatarsal media (la vena de la pata) utilizando una aguja hipodérmica o una aguja con aletas de 22 g, 23 g, 25 g ó 27g y una jeringa de 12 mL, 10 mL, 6 mL, 3 mL ó 1mL, dependiendo del tamaño del ave y de la cantidad de sangre que se deba extraer (véase la Figura 1). Por regla general, es seguro extraer a las aves vivas entre 0,3 cc y 0,6 cc de sangre por cada 100 g de masa corporal. No obstante, siempre es mejor extraer la menor cantidad de sangre posible para realizar los análisis. Si, además de llevar a cabo la vigilancia de la enfermedad, se tienen que realizar pruebas hematológicas, se recomienda utilizar una aguja de 22 g a 25 g, ya que una aguja de 27 g o una menor puede provocar que las células se dañen al pasar por un diámetro tan estrecho. Una vez se haya extraído la sangre, se cubrirá el punto de venopunción con una gasa y se aplicará presión con los dedos hasta que cese la pérdida de sangre (entre 30 y 60 segundos).

Se pasará inmediatamente la sangre de la jeringa a un tubo de ges separador de suero (tapón rojo) o a un tubo de gel separador de plasma (tapón verde). Algunos laboratorios prefieren el plasma y otros el suero dependiendo de las pruebas que se deban realizar:

se verificará antes de realizar el trabajo sobre el terreno. Los tubos de plasma se deben refrigerar o sumergir inmediatamente en un baño de agua fría hasta su centrifugado en una centrifugadora portátil. Las muestras de suero deben dejarse coagular a temperatura ambiente y después mantenerse refrigeradas o sumergidas en un baño de agua fría hasta su centrifugación. Una vez centrifugados, tanto el suero como el plasma se deben transferir a un criovial utilizando una pipeta de transferencia estéril o, si no se dispone de ésta, se deben verter cuidadosamente en el criovial, que se congelará.

Se deben marcar todos los crioviales con la fecha, especie, número de identificación que haga referencia a una base de datos en la que se pueda encontrar información adicional y tipo de muestra (plasma o suero). Se comprobará que las etiquetas están escritas con lápiz o tinta indeleble que no se disuelva al mojarse, al colocarse en nitrógeno líquido ni a temperatura igual o inferior a -70°C .

Deben recolectarse hisopos traqueales o cloacales de todas las aves vivas (véase el capítulo 7) y, en muchos casos, se deben registrar informaciones adicionales morfométricas, como la masa, el culmen, el tarso y el cordón del ala, y se deben colocar anillas de acero inoxidable en la pata del ave para el posterior seguimiento (sólo en el caso de que se disponga del permiso para colocarlas).

En algunos casos pueden ser necesarias muestras adicionales para facilitar otras investigaciones: muestras de plumas para realizar análisis de metales pesados o muestras de plumas y sangre adicionales para la investigación genética o de los isótopos. En casos excepcionales se deberá someter a las aves a cirugía menor o mayor para implantarles unidades de telemetría que faciliten la comprensión de la migración y del uso del hábitat.

En caso de hallarse en una zona donde se ha informado de la presencia de la influenza aviar altamente patógena (H5N1) o si los animales muertos o enfermos muestran signos de padecer una infección respiratoria o enteritis, utilice una mascarilla facial quirúrgica de alta filtración (por ejemplo, N-95 o P2²). Se leerán los detalles sobre cómo utilizar este tipo de mascarillas en el sitio web <http://www.fda.gov/cdrh/ppe/masksrespirators.html#1> o se obtendrá de un profesional médico la capacitación para colocar y utilizar las mascarillas faciales.

SACRIFICIO

Si los signos clínicos se corresponden con los de la influenza aviar u otra enfermedad conocida como la enfermedad de Newcastle (por ejemplo, si los animales sufren enfermedades respiratorias, neurológicas o gastrointestinales) o si los animales están moribundos (las aves enfermas pero no moribundas presentarán fiebre, mientras que las aves moribundas presentarán hipotermia), se deberá considerar la posibilidad de sacrificar al animal.

Se tomarán muestras de sangre antes de sacrificar las aves. Más adelante se describen detalladamente los métodos que se pueden utilizar para el sacrificio. Téngase en cuenta

² Mascarillas faciales N-95, marca 3M, número de referencia 3M9320. Para obtener información sobre los distribuidores locales, visite el sitio web <http://www.3m.com>.

Mascarilla facial FFP2 (<http://www.greenham.com/c/ss/937190002/3M-FFP2-Disposable-Respirators>).

que el método de sacrificio no debe poner en peligro el valor diagnóstico del ejemplar. El sacrificio de las aves sospechosas de estar infectadas por la influenza aviar H5N1 debe realizarse con gran cuidado y la persona que lo lleve a cabo debe evitar en todo momento el contacto no protegido con el animal.

Los métodos aceptables para sacrificar aves cautivas son los barbitúricos, las anestésicas por inhalación y el CO₂ y el CO (por orden de preferencia). Si se va a sacrificar el ave utilizando barbitúricos, se utilizarán las dosis recomendadas y se titulará la dosis. Una dosis excesiva de barbitúricos puede causar daños importantes a tejidos que podrían ser necesarios para la realización de un examen histológico.

Si no es posible llevar a cabo el sacrificio sobre el terreno siguiendo este método, se considerará la posibilidad de utilizar métodos físicos como la dislocación cervical, la decapitación, las pinzas de Burdizzo³, la descarga eléctrica y el desangrado (extracción de la sangre) o un disparo. La descripción detallada de algunos de estos métodos la puede encontrar en el *Manual de Campo de Enfermedades de la Fauna Silvestre*⁴.

Para la captura de aves enfermas que no pueden ser apresadas fácilmente se recomienda el uso de armas de fuego. Se deberán abatir las aves en el acto utilizando la munición adecuada para cada especie. Se dará muerte a las aves heridas sin crueldad y rápidamente por dislocación cervical u otra de las técnicas descritas anteriormente.

Consideraciones especiales sobre el sacrificio de aves presuntamente infectadas por IA H5N1

Por regla general, es mejor sacrificar a las aves que presuntamente padezcan la influenza aviar únicamente por dislocación cervical o con las pinzas de Burdizzo. Aunque requiere menor intervención humana que la decapitación, la narcosis por CO₂ se puede utilizar sobre el terreno para evitar la contaminación del practicante con salpicaduras de sangre. El sacrificio por inyección es otro método que reduce el riesgo de exposición a la sangre. Si se utilizan medicamentos, será necesaria la presencia de un veterinario además de un manipulador del animal. Las aves se sacrificarán inyectándoles una sobredosis barbitúrica intravenosa. Téngase en cuenta que la sujeción de los animales para administrarles la inyección intravenosa puede poner a los manipuladores del animal en una situación inadecuada de riesgo.

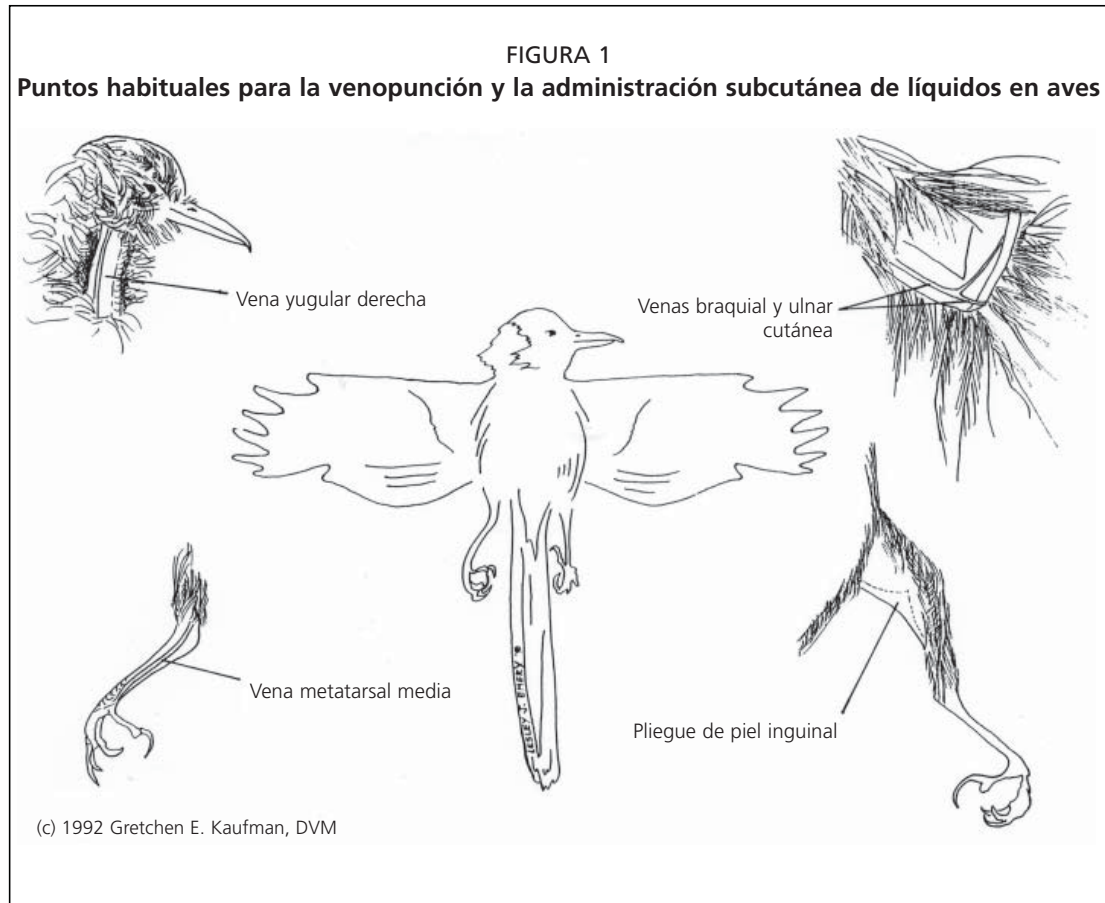
Si no es posible tomar una muestra de sangre antes de sacrificar a las aves (lo que se prefiere), se hará inmediatamente después del sacrificio mediante una punción cardiaca. En el caso de las aves de tamaño similar al del pato, se insertará una aguja de 4 cm (16 g ó 18 g) justo debajo de la quilla del animal dirigiendo la punta de la aguja hacia la cabeza, en un ángulo de entre 45° y 50°, y se extraerá la sangre. Para las aves de otros tamaños pueden ser necesarias agujas diferentes.

Se pasará la sangre a un tubo separador de suero (tapón rojo) y se dejará coagular a temperatura ambiente. Se centrifugarán los tubos en una centrifugadora portátil y se

³ Utilizadas en medicina [veterinaria] como instrumento de castración de mamíferos por compresión de los vasos, se puede utilizar en las especies de aves de cuello largo y rígido aplicándolas a la parte alta del cuello detrás de la mandíbula y manteniéndolas apretadas durante entre 15 y 30 segundos.

⁴ http://www.nwhc.usgs.gov/publications/field_manual/chapter_5.pdf y http://www.avma.org/issues/animal_welfare/euthanasia.pdf (página 686 y anexos 1, 2, 3 y 4).

transferirá el suero a un criovial con una pipeta de transferencia o, si no se dispone de ella, se verterá cuidadosamente el suero en el criovial. La toma de muestras adicionales después del sacrificio se describe en los capítulos siguientes.



Capítulo 3

Recolección de aves muertas

En el caso de que se produzcan muertes de forma masiva, antes de desplazarse al lugar en cuestión, es extremadamente importante:

- 1) tomar contacto con el organismo veterinario del gobierno correspondiente;
- 2) asegurarse de que se dispone de todos los permisos previos necesarios para llevar a cabo la investigación;
- 3) coordinar las actividades de investigación de la enfermedad con los representantes de la FAO y de la OIE adecuados cuando sea necesario.

Antes de ponerse en camino hacia el lugar donde vaya a realizar la investigación de la enfermedad, asegúrese de que dispone del equipo y materiales necesarios (material de protección personal, para la toma de muestras de las aves, para la realización de las necropsias, formularios para la investigación de muertes masivas, formularios de necropsia, etc.). Tal vez le sea útil reunir en un *kit de emergencia* todos los materiales necesarios y reemplazarlos cada vez que vuelva de la investigación sobre el terreno. El mantenimiento de un inventario de los materiales de dicho *kit* ayuda al reaprovisionamiento de los mismos (véase el Capítulo 4).

A su llegada al lugar, evalúe la tasa de mortalidad, incluido el número de aves, de especies involucradas, de otros animales silvestres o domésticos involucrados y la distribución geográfica de la mortalidad. Registre esta información en un *Registro de muestreo sobre aves enfermas o muertas* (véase el Anexo 1). Además de las muestras de las aves, tal vez sea también interesante recolectar otras relacionadas con el medio ambiente, como muestras del suelo, agua, vegetación y otros elementos que considere que han tenido alguna relación con las muertes. Es preferible proporcionar las coordenadas GPS de la zona donde se han producido las muertes, de ser esto posible, a describirla verbalmente.

Asegúrese de que lleva el equipo de protección personal acorde a la situación que está investigando. Trate de reducir al mínimo el contacto directo con las aves muertas y aleje siempre los animales de su cara. Antes de manipular un ave muerta, asegúrese de que lleva al menos guantes de vinilo o látex. El mejor método para recolectar un ave muerta es darle la vuelta a una bolsa de plástico alrededor de su mano —protegida con un guante— y rodear al animal con la bolsa, de manera que usted no toque directamente al animal. Cierre la bolsa fuertemente (utilice una bolsa doble si es necesario para mayor resistencia y limpieza) y escriba en la bolsa claramente con tinta indeleble un número de identificación del animal (el mismo que se ha utilizado en la *Registro de muestreo sobre aves enfermas o muertas*, Anexo 1), la especie, fecha, hora y lugar. Si se ha visto afectada más de una especie, recoja varios ejemplares de cada una para su diagnóstico. Por regla general, los cadáveres de las aves que han estado muertas menos de 24 horas (cadáveres frescos) son adecuados para realizar una diagnóstico. No obstante, los de las aves moribundas o virémicas son mejores. En los climas fríos, los cadáveres pueden mantenerse en buen estado durante

períodos de tiempo más largos, mientras que en climas templados se descomponen más rápidamente.

Siempre que sea posible se refrigerarán (no congelarán) los cadáveres frescos; un cadáver en descomposición está desecado, hinchado, verdoso, huele mal y sus plumas se pueden arrancar fácilmente. Para mejorar el valor del diagnóstico, los cadáveres frescos deben ser transportados a las instalaciones veterinarias o patológicas adecuadas y examinados lo antes posible. Si se encuentra usted sobre el terreno o lejos de las instalaciones de diagnóstico apropiadas, tome las muestras en el lugar y guárdelas en un refrigerador o en un recipiente con hielo. No guarde los cadáveres en los refrigeradores que se utilizan para los alimentos de humanos o animales.

ESTRATEGIA DE MUESTREO DE LA IA H5N1

Para cada especie afectada, seleccione un máximo de 3 aves (o más, si resulta práctico) que hayan muerto muy recientemente (menos de 24 horas), un máximo de 3 aves que estén enfermas (moribundas o con signos de enfermedad respiratoria, neurológica o gastrointestinal) y un máximo de 3 aves aparentemente sanas en contacto con las aves que se encuentren enfermas. Si es posible, realice también un muestreo de otras aves vivas que compartan el mismo hábitat (únicamente hisopados traqueales o cloacales). Dé la prioridad a las aves que viven en las tierras húmedas junto a las aves afectadas, ya que la forma más probable de transmisión del virus de la influenza aviar es la contaminación fecal del agua, orillas y bancales.

Exposición de los humanos: consideraciones especiales sobre la exposición al virus de la IAAP

Las personas que manipulen aves presuntamente infectadas por la influenza aviar deben actuar juiciosamente y ser conscientes de todas las posibles vías de infección. La influenza puede infectar a los humanos por contacto con las membranas mucosas (por ejemplo, la totalidad del tracto respiratorio y gastrointestinal y los ojos). La infección podría producirse por un pinchazo accidental con una aguja o un instrumento utilizado para la necropsia contaminado con tejido fresco y húmedo o fluidos de animales infectados y, posiblemente, por contaminación a través de una abertura en la piel. Por lo tanto, sólo se producen infecciones como resultado de la exposición directa a los virus vivos presentes en las gotas de líquidos nebulizados o en fluidos contaminados. La infección transdérmica (infección a través de la piel intacta) no se ha descrito y el virus no se transmite por vectores.

Hasta la fecha, con la excepción de un solo caso, todas las muertes de humanos causadas por la IA H5N1 han sido el resultado de la exposición a las aves de corral o a zonas en las que se crían aves de corral. Sólo existe un caso en humanos que se puede atribuir al desplumado de un cisne infectado. No obstante, se deben tomar precauciones similares para la realización de una investigación sobre muertes masivas de aves silvestres que para sacrificar un granero de aves de corral.

Es mejor recolectar tantos cadáveres como sea posible y colocarlos en una ubicación central para su procesado. Retirar las aves muertas del lugar ayudará también a evitar la contaminación secundaria de carroñeros y del medio ambiente. Es de suma importancia rellenar el *Registro de muestreo sobre aves enfermas o muertas* (véase el Anexo 1) a medida que se recolectan y procesan los cadáveres.

Si le es posible, intente recolectar y examinar los animales enfermos tanto como los muertos recientemente, siempre asegurándose previamente de que dispone de los permisos necesarios para capturar animales vivos. Si hay demasiados ejemplares muertos como para introducirlos en bolsas y etiquetarlos individualmente, intente guardar en bolsas y examinar únicamente los animales bien conservados, ya que serán éstos los más útiles para la diagnosis, y manténgalos separados de los cadáveres en estado de descomposición. Si es posible, los cadáveres se transportarán (siempre en bolsas precintadas) en un espacio bien separado del de los ocupantes del vehículo.

Si trabaja en una zona alejada, es posible que deba realizar las necropsias in situ.

En este caso, siga estrictamente las medidas de protección personal, particularmente en las zonas donde se haya informado o se sospeche de la presencia de la IA H5N1. Es asimismo importante que se asegure de eliminar correctamente los cadáveres examinados y los materiales utilizados y de desinfectar todo el equipo adecuadamente (véanse los Capítulos 10, 11 y 12). Si tiene que llevar consigo las prendas u otros elementos de vuelta a zonas rurales o urbanas, introdúzcalos en bolsas dobles tras haberlos sumergido en desinfectante durante al menos 30 minutos (véase el Capítulo 11 sobre *Desinfección* para obtener más información). No lave las prendas utilizadas en la investigación en el terreno en lavadoras domésticas ni en lavanderías.

Si existen sospechas sobre la presencia de la IA H5N1, no traslade a las aves antes de tomar muestras; sacrifíquelas, tome muestras y elimínelas de forma adecuada en el lugar mismo para reducir al mínimo el riesgo de contaminar zonas previamente no infectadas. Asegúrese también de que las prendas, vehículos y otros materiales susceptibles de portar agentes patógenos se desinfectan adecuadamente antes de abandonar la zona que se sospecha infectada.

En lo que respecta al análisis virológico de la influenza aviar, el almacenamiento en hielo de las muestras es apropiado si éstas van a ser transportadas al laboratorio para su análisis o archivo en las cuatro horas siguientes. Dado que esto no es posible en la mayor parte de las investigaciones en el terreno, se deberá introducir un sistema que permita colocar las muestras directamente en nitrógeno líquido (a una temperatura de $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$) en el propio lugar y conservarlas posteriormente a una temperatura de $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ o inferior (el nitrógeno líquido tiene una temperatura de $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$) con la finalidad de preservar el virus y su ARN hasta la investigación en el laboratorio. Si no se conservan adecuadamente, las muestras pueden no ser aptas para la diagnosis.

Capítulo 4

Protocolo para la realización de necropsias en las aves

PROTECCIÓN E HIGIENE LABORAL DURANTE LA PRÁCTICA DE LA NECROPSIA

1. La sala donde se realizan las necropsias debe estar aislada y utilizarse sólo para este fin. El equipo que se utiliza para las necropsias, así como los instrumentos y las superficies de trabajo no se deben utilizar para ninguna otra operación. El equipo que utiliza para las necropsias y las superficies de trabajo debe limpiarse y desinfectarse después de cada uso. Es muy recomendable instalar un sistema de lavado del calzado en la puerta de la sala donde se realizan las necropsias.
2. No se deben guardar alimentos para humanos ni animales en la zona donde se realizan las necropsias, ni en los refrigeradores y congeladores utilizados para almacenar las muestras patológicas.
3. Se debe formar al personal de apoyo sobre los peligros de las enfermedades zoonóticas y las formas de transmisión de las enfermedades, y se les debe informar de la forma de gestión de los peligros biológicos y de los derramamientos de productos químicos.
4. Las personas que llevan a cabo o que observan la realización de necropsias generales y aquéllas que realizan la limpieza de la sala de necropsias deben utilizar prendas protectoras adecuadas. Entre las prendas protectoras debe haber una mascarilla facial (se recomienda el uso de las mascarillas N-95 o FFP2 para el examen de los animales que muestren signos de enfermedades respiratorias), guantes desechables no estériles, delantales impermeables, batas de manga larga ajustable a las muñecas, gafas protectoras y botas de goma. Se debe habilitar un punto para lavarse las manos dentro de la sala de necropsia.
5. Las plumas de los animales deben mojarse con una solución muy diluida de detergente y agua antes de comenzar los exámenes para reducir el riesgo de nebulizar agentes infecciosos en el ambiente.
6. El examen de las aves que muestren signos de enfermedades infecciosas se debe realizar en una cabina biosegura de clase II.
7. Se debe informar a los laboratorios de referencia de que se les envían tejidos sospechosos de contener agentes zoonóticos potenciales (tejidos de aves en los que se sospeche la presencia de clamidiosis o de influenza aviar). La realización en el propio lugar de frotis de impresión o de otras pruebas diagnósticas no está recomendada en estos casos, a menos que se puedan llevar a cabo en una cabina biosegura.
8. Los cadáveres se mantendrán congelados (-70 °C) hasta que se haya determinado un diagnóstico y después serán eliminados por un método acorde al que autoricen

los reglamentos locales, preferiblemente en un servicio de incineración especializado en riesgos biológicos.

9. Los tejidos y restos de animales deben mantenerse congelados hasta que la presencia de la enfermedad zoonótica haya sido descartada, antes de ser enviados a museos o a otros investigadores.

Las medidas de seguridad descritas anteriormente son de aplicación para los procedimientos diagnósticos realizados en instalaciones equipadas apropiadamente. Cuando las necropsias se deban realizar en zonas remotas o aisladas se debe estar muy atento a respetar las precauciones de protección personal, así como a evitar la dispersión del patógeno por parte de personal, equipo y vehículos contaminados. Si se encuentra en una zona remota, debe seguir el mismo protocolo para la realización de las necropsias (explicado más adelante) y debe tomar las muestras siguiendo el método indicado. No obstante, además de estos procedimientos, deberá tomar precauciones especiales para la eliminación de los cadáveres y los restos, así como para la desinfección del equipo de varios usos, tal como se describe en los capítulos anteriores.

Recuerde que sobre el terreno debe tomar el mayor número de muestras posible de una sola vez, ya que ésta será la única ocasión de hacerlo. Los cadáveres deben ser destruidos y eliminados de forma adecuada una vez examinados.

PROTOCOLO PARA LA REALIZACIÓN DE NECROPSIAS EN LAS AVES

Una persona experimentada puede realizar la siguiente necropsia en 15 ó 20 minutos.

Historial

El historial debe incluir:

- Especie, origen (silvestre/zoológico/rehabilitación/propiedad privada), fecha y lugar de recolección

En cautividad

- Dieta, origen de los alimentos y del agua.
- Condiciones medioambientales o de encierro – ventilación, sustrato, tipo de jaula, etc.
- Exposición a otras aves.
- Exposición a sustancias tóxicas – plomo, plantas, gases.
- Cambios recientes del medio ambiente.
- Signos clínicos de enfermedad, comienzo y progresión de los signos.
- Tratamiento dispensado, incluido si el ave murió o fue sacrificada.

Silvestres

- Persona que informó del brote de mortalidad/enfermedad.
- Cuántas aves se han visto afectadas o han muerto.
- Especie y grupo de edad.
- Otra fauna silvestre afectada (por ejemplo, carroñeros, depredadores).
- ¿Desde cuándo se da la situación de mortalidad (días/semanas/meses)?
- Proximidad a zonas de cría de aves de corral.
- Animales domésticos afectados.

- Proximidad a centros urbanos/cría doméstica de aves de corral.

El examen del medio ambiente de las aves puede proporcionar datos muy importantes.

La toma de fotografías o vídeo del lugar y de las aves muertas o enfermas puede proporcionar una información valiosísima.

EXAMEN EXTERNO

Se debe realizar un examen físico externo del ave siguiendo el mismo método sistemático que se utilizaría para un ave viva.

Tome hisopados traqueales y cloacales antes de iniciar la necropsia.

Asegúrese de realizar los siguientes exámenes:

- Verifique la especie y la edad del cadáver y compruebe si el ave tiene alguna anilla identificativa.
- Examine el plumaje y la piel para ver si el ave estaba mudando el plumaje o presenta parásitos, magulladuras, laceraciones, pinchazos, abrasión, hinchazón, anemia o dermatitis.
- Examine los orificios de la nariz, ojos, oídos, cloaca y la cavidad bucal en busca de exudados, parásitos o cuerpos extraños.
- Cantidad de masa muscular y presencia de grasa subcutánea.
- Examine los huesos largos y las articulaciones en busca de fracturas, luxaciones o hinchazones.
- Inspeccione las plumas alrededor de la cloaca; ¿tienen adheridos uratos o heces?
- Examine la mucosa cloacal.
- Examine las patas en busca de traumas o pododermatitis (superficies plantares ulceradas o hinchadas).

EXAMEN INTERNO

Existen varios protocolos para la realización de necropsias a las aves. Se le recomienda que utilice el protocolo con el que se sienta más cómodo, siempre que éste sea completo y sistemático.

Pulverice o sumerja el cadáver en una solución diluida de detergente para humedecer las plumas y reducir así el riesgo de nebulizar partículas infecciosas.

Corte el pico superior a la altura de la comisura bucal para examinar los orificios nasales y los senos. Corte transversalmente el maxilar y haga una incisión en la piel que se extiende desde el maxilar hasta la entrada torácica. Seccione el esófago de la cavidad bucal, cortando longitudinalmente el buche y continuando hasta el nivel de la entrada torácica.

Examine el velo del paladar, la laringe y la siringe. Incida longitudinalmente en la tráquea empezando en la laringe y siguiendo hasta el nivel de la entrada torácica. Compruebe si en la tráquea hay parásitos, placas fúngicas, exudados, cuerpos extraños, congestión o coágulos de sangre.

Incida en la piel desde la entrada torácica hasta la cloaca. Desarticule las articulaciones coxofemorales. Retire la piel del abdomen y del pecho. Un indicador de deshidratación puede ser la piel fuertemente adherida o los tejidos oscuros.

Practique incisiones en serie en la musculatura pectoral para descartar la presencia de lesiones. Palpe el coracoideo y la fúrcula para verificar si hay pequeñas fracturas. Retire

el esternón cortando transversalmente los músculos abdominales, las costillas, los huesos coracoideos y la fúrcula.

Tan pronto como quede expuesta la cavidad interna del cuerpo, utilice instrumental limpio para tomar muestras de tejido fresco. Haga esto antes de tocar los órganos con las manos (siempre protegidas con guantes). Examine la posición y el aspecto general de los órganos. Preste atención especialmente a la presencia de fluido celómico, parásitos, abscesos o masas. Levante con cuidado el ventrículo y los intestinos y examine las bolsas de aire abdominales y los órganos reproductores.

La presencia de fibrina sobre las superficies celómicas es signo de infección bacteriana, entre otras por la especie *Chlamydophila*. La presencia de un material calcáreo blanco en la superficie del corazón, hígado u otro órgano corresponde a la formación de cristales de ácido úrico a causa de una hiperuricemia, debida a una nefritis o una nefrosis urática, resultado ambas de la falta de agua. Si se utiliza una cantidad excesiva de barbitúricos durante el sacrificio se pueden formar cristales blancos en la superficie del corazón y de los vasos mayores. Los barbitúricos también licuan parcialmente estos tejidos, dándoles una consistencia blanda y una coloración parda.

Los coágulos grandes de sangre en el abdomen o un hematoma en el hígado pueden ser el resultado de un traumatismo. Los coágulos de sangre pueden ser consecuencia también de una hemorragia por un tumor grande, de la ruptura de la aorta o de una vasculitis fúngica. La ascitis puede ser resultado de una enfermedad del corazón, del hígado, de la ingestión de toxinas o de la neoplasia. Las lesiones amarillentas o blancuzcas de los alvéolos pulmonares, dentro del lumen traqueal o en los pulmones suelen deberse a una infección por hongos (aspergilosis), aunque también pueden deberse a una infección bacteriana o a tumores.

En el caso de los polluelos, busque señales de infección en el ombligo y en el saco vitelino.

Comience el examen de los tejidos corporales: tome muestras de 0,5 cm de cada órgano y colóquelas en formalina amortiguada al 10%. Si descubre una lesión, coloque la mitad de ésta en formalina y la otra mitad en un vial estéril para su cultivo o congelación hasta el examen histopatológico.

Examine el sistema circulatorio y el sistema inmunológico. Examine y tome muestras de las glándulas tiroideas, ya que éstas desaparecen rápidamente tras la disección de los otros órganos. Las glándulas tiroideas se encuentran justo en la base de la arteria carótida interna. Si toma la glándula entera y partes del vaso sanguíneo que la rodea como muestra, se podrá examinar la glándula paratiroides, el cuerpo ultimobranquial, la arteria, la vena, los alvéolos pulmonares y, en un ave joven, la molleja o bolsa de Fabricio.

Retire el corazón cortando los vasos principales de su base. Haga un corte transversal a lo largo del ápice del corazón para dejar a la vista las cavidades ventriculares y las válvulas. **Si no se tomó una muestra de sangre antes de la muerte del ave**, puede tomarla ahora de las cavidades del corazón con una jeringa y transferirla con cuidado a un tubo de recogida de suero. Espere a que se coagule o que se asiente si no dispone de centrifugadora, y decante el suero claro en un tubo limpio.

Las aves anémicas presentan tejidos de color pálido y la sangre acuosa. Los ventrículos del corazón de las aves hipovolémicas tienen normalmente un aspecto cónico y contraído.

Seccione el esófago a la altura de la bifurcación de la traquea. Sujete el esófago caudal

con los fórceps y levántelo suavemente para cortar las membranas peritoneales que unen el hígado y el tracto intestinal a las paredes dorsales del cuerpo. Disponer el hígado y el tracto intestinal sobre la mesa, estirando el conjunto más allá de la cloaca. Estire el tracto intestinal y examine meticulosamente la superficie serosa. Examine el páncreas y el bazo. El páncreas es el tejido de color canela que se sitúa entre la parte ascendente y la descendente del duodeno. El bazo se encuentra normalmente entre el hígado y la membrana serosa del estómago, en la zona donde se unen el proventrículo y el ventrículo.

Compruebe la permeabilidad del canal biliar presionando la vesícula biliar o el canal biliar antes de retirar el hígado de la masa intestinal. Practique secciones en serie en el hígado para comprobar la integridad del parénquima hepático y del sistema biliar.

Una decoloración amarillenta del hígado puede deberse a un cambio fisiológico en una gallina ponedora o en un polluelo muy joven cuando se da una actividad muy alta del metabolismo de las grasas.

Retire la membrana que cubre los pulmones. Examine el parénquima pulmonar y punce varios de los bronquios mayores.

Examine las cápsulas suprarrenales y las gónadas. Abra el oviducto, si es que existe uno. Asegúrese de cuál es el sexo del ave por la forma de las gónadas. Las hembras de la mayoría de las especies de aves tienen únicamente un ovario izquierdo y un oviducto, excepto el kiwi pardo y algunas aves rapaces, que tienen dos ovarios.

Examine los riñones y los uréteres. Intente localizar la bolsa de Fabricio, que sólo está presente en las aves jóvenes. La bolsa es de color blanco pálido o canela, y se puede encontrar en la cavidad celómica caudal, situada frente a la cloaca.

Comenzando por el proventrículo, disecte la pared de todo el tracto intestinal, incluido el ciego (**asegúrese de que se han tomado ya las muestras para el cultivo bacteriano y viral antes de abrir el tracto intestinal**). Examine el tracto digestivo en busca de alguna ingesta normal o anormal, hemorragias, necrosis, ulceraciones, parásitos o accidentes vasculares.

Examine la piel, el integumento, los músculos, los huesos y las articulaciones. Una reducción de la masa muscular, la falta de depósitos adiposos, el reducido tamaño del hígado, la contracción de los ventrículos, la vesícula biliar llena y una atrofia serosa de la grasa son indicadores de una anorexia prolongada. Compruebe la fortaleza de los huesos rompiendo uno de los huesos largos. Coloque la mitad del tibiotarso en formalina para permitir que se examine la médula ósea. Incida en varios de los tejidos blandos que rodean las articulaciones en busca de cambios degenerativos, infecciones o gota articular.

Desarticule y separe la cabeza de la espina cervical. Utilizando tijeras o una pinza para huesos, corte cuidadosamente las partes dorsales del cráneo, comenzando por el foramen magnum. Examine la calota craneal y el cerebro. Puede colocar la cabeza entera en formalina o retirar el cerebro de la calota craneal y colocar la mitad de éste en formalina y congelar la otra mitad.

Si el ave estaba ciega o padecía alguna lesión ocular, coloque el ojo en formalina.

Si el ave tenía un ala caída o cojeaba, tome muestras del nervio femoral y del plexo braquial y colóquelas en formalina.

Esterilice el instrumental después de cada necropsia sumergiéndolo en alcohol e inflamándolo.

Etiquetado

Marque en las etiquetas de todas las muestras la fecha y una abreviatura distintiva que represente el lugar donde se tomó la muestra, por ejemplo MJ = mi jardín. Después, escriba en la etiqueta M (muerto), E (enfermo) o N (normal). Escriba a continuación T (hisopado traqueal), C (hisopado cloacal), B (bazo), H (heces), Se (suero), Tn (turbينات nasales), Tr (tráquea), P (pulmón), Hi (hígado), P (páncreas), Co (corazón), Bu (buche), Pr (proventrículo), Mo (molleja), Id (intestino delgado), Du (duodeno), Ico (intestino – colon), Ce (ciego), AmC (amígdalas cecales), Cb (cerebro), Te (testículo), O (ovario), R (riñón). A continuación escriba el número de identificación del ave de la que se han tomado las muestras. Utilice un único número de identificación animal por ave, incluso en el caso de que esté tomando varias muestras del animal.

Archivo de los datos

Prepare un informe detallado de la necropsia o una hoja registro de la toma de muestras (véase el Anexo 1) para documentar sus observaciones y enumerar las muestras que ha recolectado. Envíe una copia del informe al servicio veterinario del gobierno competente y otra al laboratorio de referencia OIE/FAO (véase el Anexo 2).

Fijador de tejidos para la diagnosis patológica

Para obtener un litro de solución:

100 ml de formalina (38-40 % formaldehído)

900 ml de agua destilada

4 g de cloruro sódico (una cucharada de sal) [ó 4,5 g de fosfato sódico (monobásico) ó 3,6 g de hidróxido de sodio]

Descripción de los tejidos (normal/anormal)

Tejido	Normal	Anormal
Pulmón	rosado, esponjoso, plegable	rojo oscuro, amoratado, pesado
Corazón	rojo intenso uniforme	pálido, moteado
Intestinos	rosado claro o pardo, con vasculatura rojiza o púrpura visible, pero no prominente	rojizo, negro, azulado o con vasculatura roja oscura o negra prominente
Bazo	rojo oscuro, coloración relativamente uniforme	rojo brillante o amoratado moteado con puntos pálidos (considere el efecto de los barbitúricos si éstos se utilizaron para sacrificar el ave)
Hígado	rojo oscuro o marrón, color uniforme	pálido, amarillento, verdoso, negro, moteado o con coloración no uniforme
Amígdalas cecales	apenas discernibles	hinchadas, de color rojo oscuro o negro (necrosis)
Testículos	lisos, superficie blanca	hemorrágicos
Folículos ováricos	tamaño progresivo, amarillentos	hemorrágicos
Riñón	color marrón oscuro rojizo uniforme	pálido, negro, moteado
Páncreas	entre marrón rosáceo y blanco hueso, coloración uniforme	hemorrágico, moteado
Tráquea	sin exudados	hemorrágica, con exudados

Equipo necesario para la realización de necropsias a las aves

Equipo de protección personal:

- Lona y cuerda para montar una tienda que proteja de la lluvia y el sol
- Repelente de insectos
- Crema solar, sombrero y gafas de sol
- Agua potable
- Cambios de ropa
- Batas
- Delantal de PVC
- Guantes de látex y/o guantes de fregar
- Gafas protectoras o careta de protección
- Mascarillas faciales quirúrgicas
- Botas de goma y calzado cómodo
- Cubo para lavar, cepillo de uñas, jabón antiséptico, toallas de papel, desinfectante en spray.
- Linterna de mano y foco
- Botiquín de primeros auxilios
- Teléfono celular/satelital
- Antorcha localizadora de emergencia si se encuentra en una zona rodeada de agua o muy remota
- Papel higiénico

Equipo para la recogida de

cadáveres:

- Bolsas de basura de gran resistencia
- Cuerda
- Etiquetas para las bolsas y lápiz o rotulador indeleble
- Registro de muestreo

Equipo general:

- Paquetes bioseguros para el transporte del equipo
- Hoja de trabajo de necropsia o registro de muestreo
- Lápices y sacapuntas
- Sujetapapeles con cubierta de plástico para protegerlo de la lluvia
- Unidad de eliminación de equipo cortante
- Cámara y baterías
- Cinta adhesiva y cinta de embalar
- Regla y balanza de resorte
- Unidad GPS y mapas

Equipo para la necropsia:

- Cuchillos y barra de acero para afilarlos
- Cuerda y etiquetas manila
- 4 mangos de bisturí y 24 cuchillas desechables (o bisturís desechables)
- Fórceps - varios
- Tijeras - varias
- Tijeras para aves de corral o tijeras grandes para vendajes

Equipo de limpieza:

- Lona
- Agua, cepillo para fregar, detergente
- Bolsas de basura de gran resistencia
- Desinfectantes
- Cubos (marcados previamente con 1 l, 2 l ó 5 l)
- Aerosoles de presión o de mano
- Baño para calzado

Eliminación de cadáveres

- Cal
- Gasoil u otro tipo de combustible
- Palas
- Encendedor/cerillas

Equipo para la recolección de muestras:

- Rotulador de tinta indeleble
- Jeringas – 1, 3, 6, 10, 12, 20 ml
- Aguja – varios diámetros – entre 17 y 27
- Tubos para recolección de suero
- Botellas de plástico estériles – 90 ml
- Crioviales estériles – 2 ml y 5 ml
- Bolsas de plástico estériles (bolsas Whirl-pak®)
- Bolsas con cremallera de varios tamaños
- 3 contenedores de plástico de 1 litro de capacidad con 10 % de formalina amortiguada neutra, agua destilada y sal
- 100 ml de etanol 70 % - 90 %
- Hisopos de cultivo bacteriano
- Medio para el transporte viral e hisopos estériles de poliéster
- Hisopos estériles y secos de poliéster
- Tubos capilares
- Portaobjetos de cristal para microscopio y caja para guardar los portaobjetos
- Microscopio (y un espejo como fuente de iluminación si no hay corriente eléctrica) - opcional
- Centrifugadora portátil de 12 voltios
- Suero fisiológico
- Conservante de parásitos (o formalina al 5 %)
- Metanol para fijar los frotis de sangre. Acetona
- Viales y solución para la flotación fecal
- Refrigerador y paquetes de hielo
- Contenedor de nitrógeno líquido
- Hielo seco*
- Pinzas de Burdizzo
- Alicates de cortar alambre
- Barbitúricos
- Pipetas de transferencia
- Crioviales
- CO₂ (se puede utilizar para fabricar CO₂s sobre el terreno)

Dónde obtener hielo seco

Antes de comenzar la investigación, compruebe si los hospitales locales, los bancos de semen o las fábricas de helados le pueden ayudar. Si utiliza hielo seco para el transporte de las muestras, tenga en cuenta que debe utilizar suficiente como para que, a la llegada de las muestras al laboratorio, aún quede algo de hielo. Para esto es necesario contar como mínimo 1 kg de hielo seco por cada kilogramo de muestras. Para los transportes que duren más de dos días necesitará contar 2 kg o más de hielo seco por kilogramo de muestras. Tome precauciones cuando manipule el hielo seco, ya que su temperatura es de $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Utilice guantes protectores y trabaje en una zona bien ventilada.

Capítulo 5

Toma de muestras durante la necropsia

La necropsia se realiza para determinar la causa de la muerte y conlleva el examen minucioso interno y externo del cadáver. La posibilidad de que se diagnostique en el laboratorio la causa de la muerte depende de cómo se haya realizado la necropsia y del cuidado que se haya observado al tomar, etiquetar, almacenar y transportar las muestras. Si la necropsia se realiza correctamente sobre el terreno, aumentará la probabilidad de diagnosticar la causa de la muerte.

Cada muestra que se tome debe etiquetarse correctamente con su número de identificación animal, la especie, el lugar, la fecha y el tipo de órgano o de muestra. Es mejor marcar el tubo o recipiente que la tapa, porque así existe la certeza de que no se confundirán las muestras al retirar las tapas durante la manipulación. Utilice un único número de identificación animal por ave, incluso en el caso de que esté tomando varias muestras del animal. Asegúrese de escribir con lápiz o con tinta indeleble que no se disuelva en el producto fijador que esté utilizando (los fijadores con base de alcohol disuelven la tinta de muchos rotuladores “permanentes” o “indelebles”).

La etiqueta de la muestra siempre tiene que estar vinculada con la información del *Registro de muestreo sobre aves enfermas o muertas*. Es importante etiquetar claramente tanto el *Registro de muestreo sobre aves enfermas o muertas* como las propias muestras para que el personal de laboratorio pueda leer la información suministrada. Si utiliza un sistema de abreviaturas para identificar los tejidos recolectados, proporcione un código de las abreviaturas al laboratorio o unidad de epidemiología. (Puede ver un ejemplo en la página 18).

Se recomienda encarecidamente que se ponga en contacto con el servicio veterinario del gobierno pertinente (cuyo director es a menudo el delegado de la OIE) y con el representante de la FAO antes de proceder a la toma de muestras para que le proporcionen kits de diagnóstico o para discutir los procedimientos de toma de muestras y transporte. Se adjunta un protocolo para la realización de necropsias a las aves (véase el Capítulo 4) con la finalidad de facilitar el proceso de toma de muestras e identificación de las lesiones debidas a la influenza aviar H5N1 en las aves de corral. Puede encontrar más información sobre la realización de necropsias a las aves en:

http://www.nwhc.usgs.gov/publications/necropsy_manuals/index.jsp

Capítulo 6

Toma de muestras

Muestras necesarias para la investigación de la influenza aviar H5N1

De todas las aves vivas

- Dos hisopados traqueales y dos cloacales, colocados en tubos de transporte viral separados (no junte las muestras).
- Sangre en un tubo con tapón rojo o verde, refrigerada y centrifugada; suero o plasma en un criovial, congelado posteriormente.

De todas las aves muertas a las que se les ha hecho la necropsia, además de los hisopados y la sangre (como se describe en la toma de muestras de aves vivas):

- Trozos (de al menos 2 cm x 2 cm, aunque también pueden ser mayores) del bazo y del pulmón, y de cualquier otro tejido que sea visiblemente anormal, colocados en viales estériles y congelados.

Nota: esterilice el instrumental después de cada necropsia sumergiéndolo en alcohol e inflamándolo después, o dejándolo en un líquido desinfectante apropiado durante el tiempo descrito y aclarándolo después con agua estéril (véase el Capítulo 11).

DETALLES SOBRE LAS MUESTRAS QUE SE DEBEN TOMAR

- Hisopados traqueales (véase el Capítulo 7).
- Hisopados cloacales (véase el Capítulo 7).
- Suero o plasma – procedente de la sangre del corazón centrifugada del animal muerto (véase el Capítulo 3).
- Tejidos frescos – colocados en viales estériles y congelados.
 - hígado, riñón, tráquea, pulmón, alvéolos, cerebro, bazo, páncreas, intestino, proventrículo, corazón;
 - la mitad de cada lesión;
 - ciego e intestino si el animal presenta signos de diarrea.
- Tejidos fijados en formalina (lista *mínima*)
Cerebro, tráquea, pulmón, corazón, hígado, riñón, bazo, páncreas, bolsa de Fabricio (si la hay), proventrículo/ventrículo, duodeno, ciego, glándula tiroidea/paratiroides, piel con folículo de la pluma.

Para todas las investigaciones sobre la influenza aviar tome siempre muestras duplicadas (una para la reacción en cadena de polimerasa en tiempo real y otra para el posible aislamiento del virus). Coloque las muestras solo en crioviales estancos de polipropileno con tapón de rosca marcados con etiquetas a prueba de nitrógeno líquido.

Capítulo 7

Técnicas de hisopado

Lista de equipo para la recolección de muestras

- Guantes de látex o de vinilo +/- máscara N95 o FFP2, protección para los ojos, etc. (véase el capítulo 12)
- Crioviales de 2-2,5 ml con tapa de rosca (que se puedan colocar en nitrógeno líquido) que contengan un medio de transporte
- Hisopos con punta de rayón o dacrón (se evitarán los hisopos con punta de algodón y las varillas de madera, ya que pueden inhibir el crecimiento viral o las técnicas de diagnóstico molecular)
- Tijeras
- Refrigerador y bloques de hielo o contenedor de nitrógeno líquido para almacenar el medio de transporte y las muestras
- Marcador de laboratorio o etiquetas de muestra que puedan colocarse en nitrógeno líquido
- Formulario de datos para recopilar datos sobre las aves
- Cinta de embalaje y formularios de mensajería

Las muestras tomadas de la cloaca (orificio) y de la tráquea (situada entre las dos estructuras cartilaginosas colocadas en la parte posterior de la cavidad oral del ave que se abren y cierran con la respiración) y almacenadas en un medio de transporte viral pueden utilizarse para el cultivo viral o la RT-PCR con el fin de detectar la presencia de una serie de patógenos virales. Se recomienda la adquisición de hisopos de diferentes tamaños (tamaño normal y pediátrico o tamaño de la uretra del macho) destinados a especies de aves de gran tamaño y de pequeño tamaño, respectivamente, para evitar lesiones.

Existe una serie de medios de transporte viral que, bien pueden prepararse a nivel local en un laboratorio (infusión del 2,5 % de caldo de ternera, 0,5 % de BSA, 100 µg/ml sulfato de gentamicina, 2 µg/ml anfotericina B en agua destilada o infusión de cerebro-corazón con adición de penicilina (10 000 IU/ml), estreptomycin (200-10 000-µg/ml) sulfato de gentamicina (10 000 µg/ml) y sulfato de kanamicina (650 µg/ml⁵)), bien pueden adquirirse en un kit comercial. Algunos medios comerciales de transporte viral son estables a temperatura ambiente, como el Medio Universal para el Transporte Viral TBD⁶ que también puede encontrarse como kit (paquete de transporte viral de Cellmatics™) y contiene un hisopo con punta de rayón y un vial para el medio.

⁵ American Association of Avian Pathologists 4th Ed pp. 150-155.

⁶ Universal Viral Transport vial, 3ml, número de catálogo 220220 (50 x paquete). Cellmatics™ Viral Transport Pack, número de catálogo 252171 (50 x pckg), proveedor: Becton Dickinson. Referencia mundial: <http://www.bd.com/support/locations.asp>

Sin embargo, dado que muchos medios de transporte viral (especialmente los de preparación local) deben almacenarse refrigerados o congelados antes del uso y congelados después de la recolección de muestras, sus posibilidades para el uso sobre el terreno en áreas remotas son en ocasiones limitadas. Entre las alternativas se encuentran los amortiguadores comerciales de lisis⁷, que pueden mantenerse a temperatura ambiente antes de la recolección de muestras. Obsérvese que las muestras recolectadas en el amortiguador de lisis solo pueden emplearse para la detección de agentes mediante RT-PCR.

Para obtener instrucciones sobre la manera de preparar medios de transporte viral y detalles sobre la recolección y almacenamiento de muestras a efectos del diagnóstico de la influenza aviar, véase:

http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/animalspecimens/es/index.html u otros artículos de revistas especializadas donde se describan estas metodologías.

En una situación en la que se proceda a la necropsia de aves y no esté disponible un medio de transporte viral, los turbinatos nasales o la tráquea pueden resultar un buen sustituto de un hisopo traqueal y la cloaca con heces puede ser un buen sustituto de un hisopo traqueal. Para tomar una muestra de la tráquea, se practicará una incisión en la piel del cuello diseccionando hasta que se identifique la tráquea. Para tomar una muestra de turbinato nasal, córtese la parte superior del pico cerca de la cabeza y tómese una muestra del tejido que se encuentra en la parte superior de la boca.

PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRAS

1. Para el manejo de aves y la apertura de viales de muestra, se llevará un equipo personal de protección adecuado (véase el capítulo 12).
2. Retirar el envoltorio de un hisopo de dacrón desde el mango (elíjase un tamaño de hisopo adecuado para el ave) y póngase cuidado en no tocar la punta del hisopo.
3. Retirar el hisopo e introducir toda la punta en la cloaca. Aplicar una presión suave y en movimiento circular, sondear el interior de la cloaca de dos a cuatro veces.
4. Desprender los fragmentos fecales de gran tamaño (>0,5 cm).
5. Abrir el criovial y colocar la punta del hisopo en el medio de transporte aproximadamente a una altura de $\frac{3}{4}$ hacia el fondo del criovial.
6. Cortar o partir el mango del hisopo de forma que éste permanezca en el vial y el tapón correspondiente pueda enroscarse bien ajustado. Se deberá dejar en el criovial todo el hisopo y una porción del mango.
7. Si se utilizaron tijeras para cortar el mango del hisopo, limpiarlas con alcohol al 70 %.
8. Etiquetar el tubo con la información apropiada (identificación de la muestra y clase de la misma (cloacal o traqueal)) asegurándose de que la identificación del tubo pueda remitir a la hoja de datos donde exista más información sobre la muestra.
9. Registrar el número del tubo de muestra en la hoja de datos junto con el número de identificación, la fecha, la especie, la clase de muestra (cloacal o traqueal), la edad, el sexo, la ubicación (preferiblemente mediante coordenadas GPS), número de banda, observaciones u otros datos.

⁷ RNAlater lysis buffer. 50 ml número de catálogo 76104, 250 ml número de catálogo 76106. Proveedor: Qiagen. Referencia mundial: <http://www1.qiagen.com>

10. Para los hisopos traqueales, repetir las etapas 1 y 2; sin embargo, en lugar de las etapas 3 y 4, introducir suavemente la punta del hisopo en la tráquea esperando hasta que el ave respire y el cartílago protector de la tráquea se abra para permitir el paso del aire. Tocar **suavemente** con la punta del hisopo la parte posterior y los laterales de la tráquea. Retirar el hisopo y seguir después las etapas 5-9.

Obsérvese que si las aves son muy pequeñas (passeriformes), puede resultar imposible realizar un hisopado traqueal por el reducido diámetro de la abertura en la tráquea. En estos casos, se deberá tomar un hisopado orofaríngeo haciendo rotar suavemente la punta del hisopo en el interior de la boca del ave tocando sus partes superior e inferior, así como detrás de la lengua.

Si se utilizan tijeras o pinzas para cortar los hisopos, se deberán desinfectar entre diferentes tomas de muestras de aves. Otros hisopos comerciales vienen precortados, de forma que pueden partirse fácilmente con la mano. Nótese que los mangos de aplicación de muchos hisopos de pequeño tamaño pueden ser metálicos. En tal caso, si no se dispone de alicates, introduzca el hisopo en el medio de transporte viral, mezcle bien y deseche en un recipiente con desinfectante.

Etiquetar todas las muestras de forma que se pueda hacer remisión a la información pertinente en el *Registro de Muestreo sobre Aves Enfermas o Muertas* o en una hoja de datos sobre aves vivas a medida que se recolecte cada muestra (Figura 5).

FIGURA 2
Hisopo orofaríngeo



CRÉDITO: TARONGA ZOO/KARRIE ROSE

FIGURA 3
Hisopo cloacal



CRÉDITO: TARONGA ZOO/KARRIE ROSE

FIGURA 4
Ruptura del hisopo



CRÉDITO: TARONGA ZOO/KARRIE ROSE

FIGURA 5
Etiqueta de muestra



CRÉDITO: TARONGA ZOO/KARRIE ROSE

Capítulo 8

Manejo y transporte de las muestras

HISOPOS Y MEDIOS DE TRANSPORTE VIRAL

Los métodos de almacenamiento para los medios de transporte viral pueden variar dependiendo de la clase de medio que se utilice. Compruébese con el laboratorio de diagnóstico o con la empresa que haya facilitado el medio de transporte a fin de determinar las técnicas de almacenamiento adecuadas antes y después del muestreo.

Algunos medios de transporte viral necesitan una conservación a 4 °C o en un cofre congelador con bloques de hielo antes y después del uso. Si se encuentra en una localidad remota, utilice un medio de transporte viral que pueda almacenarse a temperatura ambiente o que pueda congelarse en nitrógeno líquido antes y después del uso. Si utiliza un amortiguador de lisis, almacénelo a temperatura ambiente antes del uso y refrigérese después de la recolección de muestras.

Si el transporte al laboratorio tendrá lugar en 24-48 horas, transporte las muestras sobre bloques de hielo y almacénelas refrigeradas. Si no se pueden enviar las muestras a un laboratorio apropiado dentro de los dos días siguientes a su recolección, se deberán conservar en un congelador a -70 °C o en nitrógeno líquido. Al enviar muestras sobre hielo seco, asegúrese de que las muestras van dentro de un recipiente cerrado al vacío, envueltas en cinta adhesiva y provistas de envoltorio doble. El CO₂ puede desactivar el virus de la influenza aviar si entra en contacto con las muestras, ya que los viales se contraen durante la congelación. Nunca coloque hielo seco (CO₂ (s)) en un contenedor sellado herméticamente, ya que podría estallar.

Si se utilizan medios de transporte que se tengan que refrigerar o congelar, es importante asegurarse de que las muestras se mantengan frías (cadena de frío) en todo el proceso de almacenamiento y envío. La pérdida de la cadena de frío puede dar lugar a que las muestras pierdan su condición diagnóstica.

SUERO, PLASMA Y TEJIDOS FRESCOS

Mantener las muestras de suero, plasma y tejido fresco a 4 °C si se pueden enviar y pueden llegar al laboratorio en 24-48 horas desde la recolección de la muestra. Transportar las muestras sobre bloques de hielo asegurándose de que los tubos que contengan sangre (tubos de tapón rojo o verde) se coloquen en bolsas con cierre de cremallera y se envuelvan

en una tela antes de colocarse en un refrigerador. Los tubos de sangre (de tapón rojo o verde) nunca deberían estar en contacto directo con el hielo, ya que ello podría acarrear daños a las células y a la morfología celular.

Si los tubos de tapón rojo o verde ya se han centrifugado y el suero o el plasma se han dispuesto en crioviales, se deberán colocar en una bolsa con cierre de cremallera, pudiendo estos tubos entrar en contacto directo con el hielo. Como alternativa, resultan aceptables la congelación de los crioviales en un congelador a -70 °C o en nitrógeno líquido y el transporte utilizando hielo seco.

Los congeladores que pueden asegurar una temperatura de -70 °C son los mejores. Informe al laboratorio receptor del método y la temperatura de almacenamiento de las muestras⁸. De ser posible, evite la congelación de hisopos o de muestras de tejido entre 0 °C y -20 °C (como en muchos congeladores domésticos), aunque esto sea preferible a la ausencia total de congelación de las muestras.

En caso de utilización de tales congeladores (0 a -20 °C), es preciso que el laboratorio receptor esté informado del historial de conservación de la muestra.

TEJIDOS FIJADOS EN FORMALINA

Las muestras deberán fijarse en formalina neutra amortiguada al 10 % (véase el capítulo 4: Protocolo para la realización de necropsias en las aves). Las muestras no deberán superar un grosor de 0,5 cm, de manera que el fijativo penetre la totalidad de la muestra. La proporción entre formalina y tejido en los contenedores deberá ser de 10:1. Las muestras fijadas podrán almacenarse a temperatura ambiente y **nunca** podrán congelarse.

ENVÍO DE MUESTRAS

Las empresas de mensajería consideran que la formalina en cantidades superiores a los 50 ml es un producto peligroso, lo que acrecienta los costos y la complejidad de los envíos.

Los tejidos pueden enviarse por mensajería o correo más fácilmente si el fijativo se decanta después de que las muestras se han fijado por un período mínimo de 48 horas. No se eliminará toda la formalina de las muestras de tejido, sino lo suficiente para asegurar que las muestras se puedan enviar como materiales no peligrosos.

Los tejidos frescos o congelados que puedan contener agentes infecciosos se deberán enviar en un sistema de embalaje de tres capas que se ajuste a las normas de la IATA⁹.

Asegúrese de conocer los permisos necesarios y la normativa de transporte específicos del país donde ha tenido lugar la investigación.

⁸ Esta información podría ser muy pertinente en la interpretación de resultados.

⁹ Manual de Reglamentación sobre Mercancías Peligrosas, 47ª edición, disponible en varios idiomas, puede adquirirse en: <http://www.iata.org/ps/publications/9065.htm>

Cambios importantes en la última edición de la Reglamentación sobre Mercancías Peligrosas de la IATA con efectos a enero de 2006: <http://www.iata.org/NR/rdonlyres/FBA32FAF-482A-4A04-8147-23C8E93508BC/0/SIGNIFICANTCHANGESANDAMENDMENTSTOTHE47THEDITION.pdf>

Orientación sobre sustancias infecciosas: <http://www.iata.org/NR/rdonlyres/B8B91553-49BE-4DCC-901B-50DA4E57A98E/0/GuidanceDocument18Nov05.pdf>

Instrucciones de embalaje: <http://www.iata.org/NR/rdonlyres/F9D6D81A-71FB-46C3-BD6A-DDE849FD8A56/0/PACKINGINSTRUCTION650.pdf>

Póngase en contacto con un laboratorio de diagnóstico de referencia de la FAO o la OIE (véase el Anexo 2) para obtener instrucciones sobre cómo realizar el envío de la muestra.

Asegúrese de contar con los necesarios permisos de las autoridades veterinarias y de conservación de la naturaleza (obsérvese que, en aplicación de la Convención sobre el comercio internacional de especies amenazadas de fauna y flora silvestres (CITES), se exigen permisos de exportación o importación para las especies amparadas por la Convención).

Para más detalles, véanse los documentos siguientes: la información referente a la expedición de especímenes para el diagnóstico internacional: http://www.fao.org/ag/aga-info/subjects/en/health/diseases-cards/avian_fao.html

Guidelines for the Submission of Diagnostic Samples to Reference Laboratories (Directrices para la presentación de muestras de diagnóstico a laboratorios de referencia)
http://www.fao.org/docs/eims/upload/208595/gui_labsample_en.pdf
http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/transport/es/index.html

Los tejidos frescos o congelados deberán enviarse tan rápido como sea posible a un laboratorio. Es preferible la mensajería urgente con entrega el mismo día, pero la entrega al día siguiente es aceptable. No se enviarán muestras antes de un fin de semana o de períodos de inactividad prolongada. Las muestras que se pierden en los sistemas de mensajería durante un fin de semana suelen tener escaso interés cuando finalmente aparecen.

Siempre se informará con antelación al laboratorio receptor del envío de muestras facilitando el número de la carta de porte aéreo y la hora prevista de llegada.

Capítulo 9

Diagnos

Aunque el virus de la IA H5N1 (en adelante, VIA H5N1) presenta similitudes con otros virus de la influenza aviar, actualmente se considera que es detectable en las vías respiratorias (tráquea) con mayor facilidad que en la cloaca o en las heces, lo que lo diferencia de otros virus influenzales que suelen encontrarse en aves sanas.

Por este motivo se piensa que el análisis de las muestras traqueales es el método más probable para la detección del virus, siendo las cloacales el segundo tipo de muestra más probable en el que puede aislarse el VIA H5N1.

Dado que las lesiones patológicas no son definitivas en el caso de muchas enfermedades (incluidos los VIA), el diagnóstico debe confirmarse aislando y caracterizando el agente causante. De ser posible, se deberán realizar pruebas bacteriológicas con el fin de excluir de la lista de diagnósticos diferenciales las septicemias bacterianas.

DIAGNOSIS DE LABORATORIO PARA LOS VIRUS DE LA INFLUENZA AVIAR

Identificación del agente

Las suspensiones en el medio de transporte viral o las muestras traqueales y cloacales (o en las heces), tomadas de aves vivas, o de heces y muestras agrupadas de órganos de aves muertas, se inoculan en la cavidad alantoica de huevos de ave embrionados de 9 a 11 días. Los huevos se incuban a 35–37 °C entre 4 y 7 días. El fluido alantoico de los huevos que contengan embriones muertos o moribundos según van apareciendo y todos los que se encuentren al final del período de incubación se someten a una prueba de actividad de hemaglutinación. La presencia del virus de la influenza A puede confirmarse mediante la prueba de la inmunodifusión entre la concentración del virus y un antisuero para la nucleocápsida o matriz de antígenos, siendo ambos comunes para todos los virus de la influenza A.

Pruebas para los subtipos de virus

Los virus de la influenza aviar se dividen en subtipos de acuerdo con sus antígenos de hemaglutinina (H) y neuraminidasa (N). Existen 16 subtipos H diferentes y nueve subtipos N, con todas las combinaciones posibles. Hasta el momento, todos los virus de la IAAP han pertenecido a los subtipos H5 o H7.

Pruebas de patogenicidad

La patogenicidad puede determinarse mediante una o más de las siguientes pruebas:

- a) pruebas de patogenicidad del *pollo*
- b) pruebas de cultivo celular
- c) patotipificación molecular

El método más rápido es la patotipificación molecular. Una vez que se ha caracterizado el virus de un brote, se pueden utilizar la inmunohistoquímica, la inmunofluorescencia, la detección y el aislamiento del virus para confirmar las infecciones virulentas.

Pruebas de infección previa

Se pueden obtener pruebas de infección previa por IA comprobando la presencia del anticuerpo específico del grupo A de la influenza por medio del ensayo de precipitina por inmunodifusión en gel de agar (AGDP) o del ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA), o comprobando la presencia del anticuerpo específico del subtipo para el antígeno H o N utilizando el ensayo de inhibición de la hemaglutinación (IH) o ELISA, respectivamente.

Podrán encontrarse instrucciones metodológicas detalladas y procedimientos normalizados internacionalmente aceptados en: *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*, Capítulo 2.7.12, Avian Influenza (versión aprobada en mayo de 2005): http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00037.htm (Capítulo sobre la influenza aviar del Manual de pruebas de diagnóstico y vacunas para animales terrestres).

Véase el Anexo 2 para la lista de laboratorios de referencia de la OIE y la FAO para la influenza aviar o consúltese una de las siguientes direcciones:

<http://www.offlu.net>

<http://www.fao.org/ag/aga/agah/VS/Default.htm>

http://www.oie.int/eng/avian_influenza/List_lab_ref_2006.pdf

PRUEBAS SOBRE EL TERRENO (EN EL PUNTO DE ATENCIÓN)

En algunos casos y, si hay disponibilidad, puede resultar aconsejable realizar pruebas rápidas de detección de antígenos de la influenza sobre muestras cloacales o traqueales recolectadas de animales enfermos o muertos. Se dispone de numerosos kits comerciales de prueba rápida para la detección de los virus de la influenza A¹⁰. Por ejemplo: Flu Detect (Synbiotics™)¹¹, Directigen Flu A® (Becton Dickinson)¹² y Flu OIA® (Biostar Inc)¹³.

¹⁰ Ni los autores ni sus organismos verifican la fiabilidad, posibilidad de reproducción, precisión, sensibilidad o especificidad de las pruebas enumeradas. La información solo se facilita solo a título de fuente. Estas pruebas suelen ser muy específicas para todos los virus A, pero tienen menor sensibilidad. Un resultado negativo como tal posiblemente no signifique que el virus de la influenza A no está presente. Los autores reconocen que hay otros fabricantes y que se está investigando el desarrollo de mejores ensayos de campo (en el punto de atención).

¹¹ Flu Detect™, Manufacturer Synbiotics. Código de producto 96-6800 (20 pruebas). Información en: <http://www.synbiotics.com/>

¹² Directigen™ Kit de ensayo de la influenza A+B. Fabricante TBD. Número de catálogo 256010 (20 pruebas). Información en: <http://www.bd.com/ds/productCenter/256010.asp>

¹³ Biostar® OIA® Flu. Fabricante Biostar Inc. Número de orden FLU30 (30 pruebas). Información en: http://www.biostar.com/products/oia_flu.html

Se dispone de información adicional sobre las pruebas en el punto de asistencia sanitaria humana a través del sitio web de la OMS:

http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/RapidTestInfluenza_web.pdf.

Todas las pruebas de diagnóstico se deberán coordinar a través del jefe del servicio veterinario.

Asegúrese de llevar un equipo completo de protección personal para llevar a cabo las pruebas, según se expone en la parte sobre seguridad personal (véase el Capítulo 12). Obsérvese que, si bien existen varios kits comerciales de ensayo para la influenza, los resultados no resultan, con frecuencia, fiables. Se deberá observar una conducta prudente porque los resultados positivos pueden corresponder a positivos verdaderos, pero no puede descartarse que sean negativos sobre la base de estas pruebas rápidas.

Los resultados de estas pruebas solo pueden considerarse indicativos, ya que su sensibilidad no es tan elevada como para otras pruebas de diagnóstico disponibles y no son específicas para el antígeno H o N. Por tanto, cualquier resultado positivo de la prueba rápida de detección de antígenos deberá examinarse nuevamente en un entorno de nivel BSL 3, preferentemente en un laboratorio veterinario del sector público o en los laboratorios de referencia de la OIE y de la FAO, con el fin de confirmar estos resultados (véase el Anexo 2).

RT-PCR

La presencia del virus de la influenza puede diagnosticarse mediante el uso de la reacción en cadena de la polimerasa-transcriptasa inversa (RT-PCR) utilizando cebadores conservados específicos para las nucleoproteínas o para la matriz. Asimismo, la presencia de los subtipos H5 o H7 del virus de la influenza pueden confirmarse utilizando cebadores específicos del H5 o del H7. Obsérvese que los resultados negativos no descartan la infección por el virus de la influenza y no deberán servir como único fundamento para las decisiones. El diagnóstico y la clasificación por subtipo antigénico de los virus de la influenza A deberán confirmarse en uno de los laboratorios de referencia de la OIE y de la FAO (véase el Anexo 2).

Capítulo 10

Eliminación de cadáveres

El objetivo de la eliminación de cadáveres es impedir la difusión del agente patógeno a otros animales o a los humanos a través de la contaminación ambiental. Esta actividad exige una capacitación y supervisión adecuadas, así como la observancia de estrictas precauciones de protección personal.

SOBRE EL TERRENO

La incineración suele ser el método preferido para la eliminación de cadáveres y materiales contaminados relacionados con investigaciones sobre brotes de enfermedades de la fauna silvestre. Los cadáveres podrán incinerarse en superficie o bajo tierra. El fuego deberá mantenerse limitado y con un movimiento de aire suficiente bajo los cadáveres como para mantener un fuego vivo e incinerar completamente los cadáveres. La madera, el carbón, el gasoil y otros combustibles se han empleado con éxito a estos efectos.

Cuando la quema no se factible o no resulte necesaria, el enterramiento es a menudo una alternativa adecuada. Seleccione los lugares de enterramiento con cuidado, teniendo muy en cuenta la circulación de las aguas subterráneas, el drenaje y el potencial de erosión que pueda llevar a la exposición de los cadáveres. Coloque los cadáveres en una fosa, tápelos con una capa fina de tierra, rocíelos de cal por encima y, por último, cúbralos por completo con un metro de tierra como mínimo para desalentar a los carroñeros.

Para unas instrucciones detalladas referentes a procedimientos encaminados a la eliminación de cadáveres sobre el terreno, se recomienda consultar el *Field Manual of Wildlife Diseases* (NWHC, USGS – *Manual de Campo de Enfermedades de la Fauna Silvestre*):

http://www.nwhc.usgs.gov/publications/field_manual/chapter_4.pdf

Podrá hallarse más información sobre los procedimientos de eliminación en el AUSVET-PLAN Operational Procedures Manual: Disposal (*Manual de Procedimientos Operacionales: Eliminación, Edición 2, Versión 2.0, 1996*).

Capítulo 11

Desinfección

El objetivo de la desinfección es impedir la difusión mecánica de agentes patógenos de un lugar a otro por parte de personas, equipos o suministros. Antes de abandonar un lugar, se recomienda eliminar los materiales no reutilizables y desinfectar las ropas, el calzado y todo el equipo en la medida de lo posible. Se deberá poner cuidado en descontaminar todos los objetos que hayan entrado en contacto con materiales potencialmente infecciosos como, por ejemplo, instrumentos para necropsias, ropas, jaulas, equipo de control o captura, vehículos, botas, etc.

El virus de la influenza aviar es más fácil de destruir que muchos otros, ya que es muy sensible a los detergentes que destruyen su capa grasa externa. Esta capa es necesaria para penetrar en las células de los animales y, por tanto, su eliminación destruye la infectividad. Sin embargo, dado que el virus sobrevive bien en el agua y el aclarado simple puede ayudar al virus a entrar en zonas donde otras aves pueden absorberlo, todos los lavados destinados a eliminar la contaminación deberán realizarse siempre con detergentes (agua jabonosa) o desinfectantes específicos.

Entre los procedimientos adecuados de descontaminación pueden mencionarse la limpieza con lejía al 10 % (hipoclorito al 0,5 %), Lysol ® o compuestos cuaternarios de amonio similares, Virkon ®, Virocid ® o etanol al 70 % (véase el recuadro que figura a continuación para una lista detallada de productos y métodos). Lávense las botas y el exterior de las bolsas de plástico que contengan los especímenes recolectados con una solución al 5 % de lejía doméstica.

Detalles sobre procedimientos de desinfección adecuados para el uso en entornos contaminados por el virus de la IAAP

Elemento por desinfectar Elemento	Desinfectante/procedimiento químico (véase tabla de claves)
Ave muerta/cadáver	Enterrar o quemar
Alojamiento animal /equipo/jaulas	1, 2a, 2b, 2c, 2d o 3
Personas	1
Equipo eléctrico	5
Tanques de agua	Drenar en pastizal de ser posible
Estanques utilizados por aves de corral o patos	Drenar en pastizal de ser posible
Pienso	Enterrar
Efluente, estiércol	Enterrar o quemar, 43, 3 4
Viviendas humanas	1, 2a, 2b, 2c o 2d
Maquinaria, vehículos	1, o 3
Ropa	1, 2a, 2b, 2c, 2d o 3
Aeronaves	1, 2c o 2d

Clave

Clave del desinfectante	Forma y concentración final	Tiempo de contacto y notas
1. Jabones y detergentes		
1. Jabones y detergentes		Dejar en contacto 10 minutos
2. Agentes oxidantes		
2a. Hipoclorito sódico	Líquido, diluir hasta el 2-3 % final de cloro disponible	Dejar en contacto 10-30 minutos Inadecuado para materiales orgánicos
2b. Hipoclorito cálcico	Sólido o en polvo, diluir al 2-3 % de cloro disponible (20 g/l en polvo, 30 g/l sólido)	Dejar en contacto 10-30 minutos
2c. Virkon®	2% (20 g/l)	Dejar en contacto 10 minutos
2d. Virocid®	Dilución 1:400	Dejar en contacto 10 minutos No comprobado en superficies porosas
3. Álcalis		
3a. Hidróxido de sodio (sosa cáustica) (NaOH).	2% (20 g/l)	Dejar en contacto 10 minutos Uso recomendado en presencia de materiales orgánicos. No utilizar en presencia de aluminio y aleaciones similares
3b. Carbonato sódico -anhidro (Na ₂ CO ₃) -sosa de lavar (NaCO ₃ .10 H ₂ O)	4 % (40 g/l) de polvo 100 g/l de cristales	Dejar en contacto 10 minutos (anhidro) Dejar en contacto 30 minutos (sosa de lavar) Uso recomendado en presencia de materiales orgánicos 10 mins (anhidro), 30 mins (sosa de lavar)
4. Ácidos		
4a. Clorhídrico	2 % (20 ml/l)	Corrosivo, usar solo a falta de opciones mejores
4b. Cítrico	0,2 % (2 g/l)	Dejar en contacto 30 minutos Seguro para descontaminar la ropa y el cuerpo
5. Gas		
5a. Gas formaldehído	Es necesario producirlo	Dejar en contacto 15-24 horas en entorno cerrado Tóxico, solo si no pueden usarse otros procedimientos desinfectantes

Preste una atención especial a los vehículos al abandonar un lugar en el que se haya producido un brote. Desinfecte los bajos de vehículos que hayan estado en el lugar: pueden utilizarse difusores manuales o de presión para administrar desinfectante. Lave a fondo los vehículos antes de desplazarse a otras zonas. Podrá encontrarse información detallada sobre los procedimientos de eliminación de residuos en el manual de AUSVET, Plan Decontamination Manual (segunda edición, Versión 2.1, 2000) o en http://www.fao.org/ag/againfo/subjects/en/health/diseases-cards/avian_qa.html#7.

La tabla que figura en el documento proporciona orientaciones para los veterinarios y otras personas que entren en contacto directo con aves acerca de la selección y aplicación de procedimientos de descontaminación: estos procedimientos pueden aplicarse también a los brotes en medio natural, pero téngase en cuenta que siempre será necesaria la adaptación a las circunstancias específicas de cada país.

Capítulo 12

Recomendaciones para la protección personal

Las personas dedicadas al cuidado de la naturaleza y los profesionales de la salud, así como quienes entren en contacto con aves enfermas, heridas o muertas, deberán observar unas normas de precaución con el fin de prevenir la exposición a los agentes patógenos, especialmente cuando se sospeche que las aves de que se trate padecen infecciones respiratorias o cuando se trabaje en zonas donde se presuma o se haya confirmado la existencia de la influenza aviar H5N1.

Consideraciones especiales para la influenza aviar

La infección humana por el VIA H5N1 solo se da como resultado de la exposición directa al virus vivo en microgotas nebulizadas o en fluidos contaminados. La influenza puede infectar a los humanos a través del contacto con cualquier membrana mucosa (ej.: inhalación, ingestión, introducción en los ojos y a través de heridas abiertas en la piel).

La piel expuesta o contaminada deberá lavarse con agua y jabón. Una enfermedad similar a la influenza en el plazo de cuatro días después de haber trabajado con aves se deberá considerar como presunta influenza aviar y habrá de ser objeto del tratamiento médico adecuado. Podrá considerarse el tratamiento posterior a la exposición con un antiviral y deberá discutirse con un facultativo.

Las siguientes recomendaciones para reducir al mínimo la transmisión de la enfermedad por microgotas, contacto y por vía aérea se han tomado de las normas de precaución de la *Organización Mundial de la Salud y del Plan de AUSVET* del año 2000.

No comer, beber o fumar mientras se trabaje con aves enfermas o muertas.

Lavarse las manos

La primera línea de defensa contra la transmisión y para no contraer la infección es lavarse las manos.

- Lávese las manos con agua caliente y jabón antes de ponerse guantes y después de quitarlos.
- Lávese siempre las manos antes y después de comer, fumar y usar el retrete.
- No maneje cigarrillos, encendedores y teléfonos celulares antes de lavarse a fondo las manos.

Al lavarse las manos, asegúrese de que los dorsos y las palmas de ambas manos están mojados con agua caliente, aplique jabón, detergente o antisépticos de uso hospitalario, enjabone y lave el dorso, los espacios interdigitales y la palma de cada mano. Aclare bien y seque utilizando una toalla de papel. Tenga cuidado al abrir y cerrar el grifo si no hay sensor automático o un sistema accionado con el pie. Asegúrese de que el mando del grifo esté limpio.

Si no dispone de agua corriente limpia, utilice una friega a base de alcohol y lave las manos según se ha explicado más arriba.

Llevar equipo personal de protección

Hay cuatro elementos clave del equipo personal de protección que mantendrán una protección ante las enfermedades respiratorias:

- Máscara facial (se recomiendan las máscaras N-95 o FFP2 para el examen de animales con signos de enfermedad respiratoria o en lugares donde se ha hallado el VIA H5N1 en las aves de corral o en aves silvestres)
- Anteojos o gafas protectoras del rostro
- Guantes (no necesariamente estériles)
- Bata de manga larga u overol (delantal de plástico si se prevén salpicaduras)

Al usar equipo de protección personal, **lávese las manos** y después colóquese el equipo en el orden siguiente:

- 1) Overol
- 2) Cofia
- 3) Delantal de plástico



- 4) Protección para botas
- 5) Máscara – colocar la máscara asegurándose de que queda ajustada alrededor del rostro, especialmente en torno a la nariz
- 6) Gafas protectoras
- 7) Por último, colocarse los guantes
- 8) Lo ideal es llevar dos juegos de guantes (comprobando que los puños de los guantes exteriores queden por encima del overol)

Orden de colocación del equipo personal de protección

Observe que el orden de colocación del equipo personal de protección cobra importancia en el momento de quitárselo.

Una vez que se ha realizado la tarea que corresponda, es importante quitarse el equipo personal de protección de tal manera que uno no se exponga o no exponga a otros a materias potencialmente infecciosas. Tenga a mano con antelación un saco de basura y un contenedor de reciclables.

Orden para la remoción del equipo personal de protección



Ahora lávese las manos

Orden para la remoción del equipo personal de protección

Quitarse el equipo personal de protección en el orden siguiente:

- 1, 1a) Guantes exteriores, anteojos (son reciclables y deberán ir al contenedor para su desinfección)
- 2) Delantal (los delantales de estilo PVC son reciclables y deberán ir al contenedor para su desinfección)
- 3) Protección de las botas
- 4, 4a, 4b, 4c, 4d, 4e) Overol (teniendo cuidado de enrollarlo hacia abajo)
- 5) Máscara (no tocar el frontal de la máscara; quitarla tomando las correas detrás de la cabeza; primero levantar la correa inferior y pasarla por encima de la cabeza, por último, la correa superior, levantando la máscara del rostro y colocándola en el saco de basura)
- 6) En último lugar, quítese la cofia
- 7) **Lávese las manos**

Elementos necesarios para la limpieza y la desinfección del vestuario y del equipo

Cubos de plástico, cepillos, toallas (toallas desechables de papel), sacos de basura de plástico, palanganas para el lavado del calzado, jabón antiséptico, detergente y desinfectantes.

Tratar los desechos, el vestuario y el equipo usados con especial cuidado

Todos los desechos generados a partir del manejo y examen de aves con signos de enfermedades infecciosas deben tratarse como potencialmente contaminados. Los guantes, los overoles, los protectores del calzado, las máscaras y las cofias desechables deberán utilizarse solo una vez. Los elementos desechables y los cadáveres de aves deberán eliminarse a través de un servicio de incinerado de peligros biológicos, siempre que sea posible.

En situaciones de trabajo sobre el terreno, las batas, el vestuario y demás equipo que se pueda volver a utilizar deberá lavarse con detergente y agua jabonosa caliente y se deberá desinfectar. La mayoría de los virus de la aviar son sensibles a muchos detergentes y desinfectantes de uso hospitalario (véase la tabla del Capítulo 11 y la lista que figura a continuación). Es importante lavar y aclarar todos los materiales a fondo antes de la desinfección.

Entre los **desinfectantes** activos contra la influenza aviar se encuentran:

- Hipoclorito sódico al 2 % (10-30 minutos)
- Sales cuaternarios de amonio al 4 %
- Fenoles sintéticos al 2 %
- Carbonato sódico (sosa de lavar) – (10 % del peso o volumen para 30 minutos)
- Ácido cítrico (0,2 % del peso o volumen para 30 minutos) – adecuado para el vestuario y el cuerpo.

Anexo 1

Registro de muestreo sobre aves enfermas o muertas

PORTADA (EJEMPLO)

Datos del remitente	Datos del incidente
Nombre del remitente: <u>Florence Smith</u>	Fecha de observación: <u>10/10/06</u>
Departamento/Organización: <u>Birds United</u>	Fecha del informe: <u>14/10/06</u>
Dirección: <u>23 Wetlands Avenue</u> <u>Migration, Ucraina</u>	Localización (lugar exacto - con datos GPS si es posible): <u>Límite del hábitat de los humedales</u> <u>32,39 longitud</u> <u>46,13 latitud</u>
Teléfono: <u>0724-1698-322</u>	Propietario del terreno y acceso al mismo: <u>WHábitat del humedal, parte del</u> <u>parque de conservación</u>
Nº de fax: <u>0724-1698-320</u>	
Teléfono móvil: <u>07399-149-2777</u>	
Correo electrónico: <u>Fsmi@birdunit.org</u>	
Firma: <u>Florence Smith</u>	
Datos sobre la fauna:	
Especies afectadas (nombre común, género y especie): <u>garceta carretona</u>	
Total de cada especie: <u>62</u> No afectados/normales: <u>50</u> Enfermos: <u>10</u> Muertos: <u>2</u>	
Edad aproximada de los animales afectados: <input type="checkbox"/> Polluelo <input type="checkbox"/> Joven <input checked="" type="checkbox"/> Adulto	
Sexo de los animales afectados: <input checked="" type="checkbox"/> Desconocido <input type="checkbox"/> Macho <input type="checkbox"/> Hembra	
Descripción del incidente: <u>Se han encontrado 2 garcetas carretonas muertas en la orilla y 10 garcetas carretonas nadando en círculos con la cabeza caída y aisladas del resto</u>	
Condiciones medioambientales: Condiciones atmosféricas, lluvias recientes, condiciones marítimas, uso reciente de productos químicos en la zona, cambios en los niveles de las aguas de la capa freática, cambios en el manejo de los animales domésticos: _____	
Signos clínicos en los animales: <u>Marcha en círculo, cabeza caída, letargo</u>	
Signos patológicos generales: <u>Hígado pálido, ausencia de alimentos en el tracto gastrointestinal, ave en buena condición física, ausencia de fracturas y traumatismos</u>	
Gestiones realizadas: <u>se comunicó al Jefe del Servicio Veterinario y al Ministerio de Agricultura</u>	
Añada las páginas que considere necesario para dar una descripción exhaustiva y las observaciones adicionales pertinentes.	

HOJA DE REGISTRO DE RECOLECCIÓN (EJEMPLO)

Especie	Número de identificación	Ubicación	Vivo/Muerto		Cadáver fresco/congelado	Suero / Plasma		Hisopados		Tejidos recolectados		Fotos (sí/no)	Persona que Observaciones recolectó las muestras
			Método de sacrificio	muerto		Tracheal	Cloacal	Frescos	Fijados				
Ave_A_	06-001	Parque_Azul	Muerta	Fresco	Suero	✓	✓	Hígado/Cerebro_fresco	Sí	Pérez			
Ave_B_	06-002	Parque_Azul	Muerta	Fresco	sSuero	✓	✓	Hígado/Cerebro_fijo	Sí	Pérez			
Ave_C_	06-003	Parque_Azul	Sacrificada	Fresco	Plasma	✓	✓	Todos_según_protocolo	Sí	Pérez			
Ave_D_	06-004	Parque_Azul	Sacrificada	Fresco	Plasma	✓	✓	Todos_según_protocolo	Sí	Pérez			
¿Los ejemplares se almacenaron? O, en caso contrario, ¿dónde se enviaron? <i>Ejemplares enviados al laboratorio de referencia de Padua por DHL – Número de encaminamiento DL 461397. Enviado el 14 de octubre de 2006</i>													
Nombre de todas las personas que estaban presentes durante la toma de muestras													

Anexo 2

Red OIE/FAO (OFFLU) y laboratorios de referencia para la influenza aviar

OFFLU es una red conjunta de conocimientos especializados sobre la influenza, aprobada y creada en abril de 2005 por la OIE y la FAO. Sus objetivos son:

- 1) Intercambiar datos científicos y materiales biológicos (incluidas cepas de virus) entre los miembros de la red y compartir dicha información con el conjunto de la comunidad científica.
- 2) Brindar orientaciones técnicas y conocimientos veterinarios especializados a los Estados Miembros para ayudarles en la diagnosis, vigilancia y control de la influenza aviar.
- 3) Colaborar con la red mundial de la influenza aviar de la OMS en temas relacionados con la interacción entre animales y humanos.
- 4) Destacar las necesidades de investigación sobre la influenza aviar, promover su desarrollo y asegurar la coordinación.

Para obtener más información, visite el sitio web <http://www.offlu.net>.

OFICINAS DE LA FAO EN EL MUNDO

Para obtener información sobre la localización de las oficinas regionales, subregionales, de enlace y representaciones en los países de la FAO, visite el sitio web http://www.fao.org/countryprofiles/physical_presence.asp?lang=es&.

Puede obtener información sobre las representaciones en los países y acceder a los perfiles de los mismos pulsando en el mapa sobre el punto del país en cuestión.

Puede encontrar más información en el sitio web <http://www.fao.org/countryprofiles/selectiso.asp?lang=es&>, donde deberá pulsar sobre el nombre de los Estados Miembros que aparecen bajo el mapa.

MIEMBROS DE LA OIE Y REPRESENTACIONES REGIONALES

Para obtener una lista de los Estados Miembros de la OIE y de los delegados oficiales, visite http://www.oie.int/esp/OIE/PM/es_PM.htm. Puede acceder a la información de contacto pulsando sobre el nombre de los países.

La OIE tiene representaciones en las siguientes regiones: África, las Américas, Asia-Pacífico, Europa Oriental y Oriente Medio. Para obtener más información sobre las representaciones regionales de la OIE visite el sitio web http://www.oie.int/esp/OIE/organisation/es_RR.htm.

LABORATORIOS DE REFERENCIA DE LA OIE/FAO Y OTROS EXPERTOS EN INFLUENZA AVIAR

** Laboratorio de referencia de la FAO para la influenza aviar*

(Puede encontrar actualizaciones de esta lista en el sitio web http://www.oie.int/eng/avian_influenza/vaccines.htm)

VLA Weybridge*

New Haw, Addlestone, Surrey KT15 3NB (REINO UNIDO)

Tel.: (+44.1932) 34.11.11 Fax: (+44.1932) 34.70.46

Persona de contacto: Dr. Ian Brown

Correo electrónico: i.h.brown@vla.defra.gsi.gov.uk

CSIRO, Australian Animal Health Laboratory (AAHL)*

5 Portarlinton Road, Private Bag 24, Geelong 3220, Victoria (AUSTRALIA)

Tel.: (+61.3) 52.27.50.00 Fax: (+61.3) 52.27.55.55

Persona de contacto: Dr. Paul W. Selleck

Correo electrónico: paul.selleck@csiro.au

National Veterinary Services Laboratories*

P.O. Box 844, Ames, IA 50010 (ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA)

Tel.: (+1.515) 663.75.51 Fax: (+1.515) 663.73.48

Persona de contacto: Dr. B. Panigrahy

Correo electrónico: brundaban.panigrahy@aphis.usda.gov

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Laboratorio Virologia*

Via Romea 14/A, 35020 Legnaro, Padua (ITALIA)

Tel.: (+39.049) 808.43.69 Fax: (+39.049) 808.43.60

Persona de contacto: Dr. Ilaria Capua

Correo electrónico: icapua@izsvenezie.it

Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Hokkaido, Departamento de Control de las Enfermedades

Kita-18, Nishi-9, Kita-ku, Sapporo 060-0818 (JAPÓN)

Tel.: (+81.11) 706.52.07 Fax: (+81.11) 706.52.73

Persona de contacto: Dr. H. Kida

Correo electrónico: kida@vetmed.hokudai.ac.jp

Laboratorio Nacional de Referencia para la Influenza Aviar Altamente Patógena y la Enfermedad de Newcastle, Instituto de Virología Diagnóstica, Centro Federal de Investigación de Enfermedades Víricas de los Animales

Insel Riems, Boddenblick 5a, 17493 Greifswald - Insel Riems (ALEMANIA)

Tel.: (+41) 383.517.152 Fax: (+41) 383.517.151

Persona de contacto: Dr. Ortrud Werner

Correo electrónico: ortrud.werner@rie.bfav.de

Dr. Ian Brown o Dr. Dennis Alexander

VLA Weybridge*
New Haw, Addlestone, Surrey KT15 3NB (REINO UNIDO)
Tel.: (+44.1932) 34.11.11 Fax: (+44.1932) 34.70.46
Tel.: (+44.1932) 35.74.66 Fax: (+44.1932) 35.72.39
Correo electrónico: i.h.brown@vla.defra.gsi.gov.uk
Correo electrónico: d.j.alexander@vla.defra.gsi.gov.uk

Dr Ilaria Capua

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Laboratorio Virologia*
Via Romea 14/A, 35020 Legnaro, Padua (ITALIA)
Tel.: (+39.049) 808.43.69
Fax: (+39.049) 808.43.60
Correo electrónico: icapua@izsvenezie.it

Dr Véronique Jestin

Unité de pathologie aviaire Zoopôle Beaucemaine-Les Croix
BP 53, 22440 Ploufragan (FRANCIA)
Tel.: (+33.2) 96.01.62.81
Fax: (+33.2) 96 01 62 73
Correo electrónico: v.jestin@ploufragan.afssa.fr

Dr William Karesh

Jefe de equipo, Red Mundial para la Vigilancia de la Influenza Aviar en las Aves Silvestres
Jefe de Departamento, Programa de Veterinarios de Campo
Wildlife Conservation Society
2300 Southern Blvd., Nueva York 10460 (ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA)
Tel.: (+1.718) 220-5892
Fax: (+1.718) 220-7126
Correo electrónico: wkaresh@wcs.org

Dr Hiroshi Kida

Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Hokkaido, Departamento de Control de las Enfermedades
Kita-18, Nishi-9, Kita-ku, Sapporo 060-0818 (JAPÓN)
Tel.: (+81.11) 706.52.07 Fax: (+81.11) 706.52.73
Correo electrónico: kida@vetmed.hokudai.ac.jp

Para obtener más información, visite el sitio web de OFFLU: www.offlu.net.

Dr. Scott Newman

Coordinador Internacional de Fauna Silvestre para la Influenza Aviar
Grupo de Enfermedades Infecciosas/EMPRES
Servicio de Sanidad Animal
Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
Viale delle Terme di Caracolla, 00100 Roma (ITALIA)
Tel.: (+39.06) 57053068
Correo electrónico: scott.newman@fao.org o juan.lubroth@fao.org

Dr Paul W. Selleck

CSIRO, Australian Animal Health Laboratory (AAHL)*
5 Portarlington Road, Private Bag 24, Geelong 3220, Victoria (AUSTRALIA)
Tel.: (+61.3) 52.27.50.00 Fax: (+61.3) 52.27.55.55
Correo electrónico: paul.selleck@csiro.au

Dr Dennis Senne

National Veterinary Services Laboratories*
P.O. Box 844, Ames, IA 50010 (ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA)
Tel.: (+1.515) 663.75.51 Fax: (1.515) 663.73.48
Correo electrónico: dennis.a.senner@aphis.usa.gov

Dr David Swayne

Southeast Poultry Research Laboratory
USDA/ARS
934 College Station Road, Athens, Georgia (ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA)
Tel.: (+1) 706-546-3433
Fax: (+1) 706-546-3161
Correo electrónico: dswayne@seprl.usda.gov

Dr Ortrud Werner

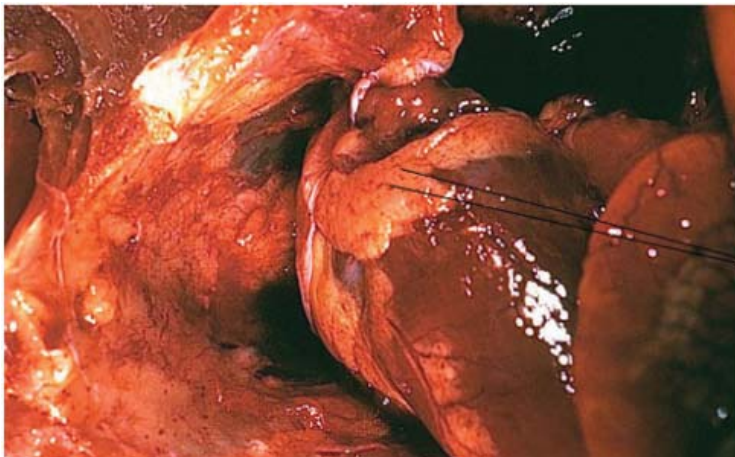
Laboratorio Nacional de Referencia para la Influenza Aviar Altamente Patógena y la
Enfermedad de Newcastle
Instituto de Virología Diagnóstica, Centro Federal de Investigación de Enfermedades
Víricas de los Animales (BFAV)
Insel Riems, Boddenblick 5a, 17493 Greifswald - Insel Riems (ALEMANIA)
Tel.: (+41) 383.517.152 Fax: (+41) 383.517.151
Correo electrónico: ortrud.werner@rie.bfav.de

Anexo 3

Ilustraciones de la patología general

A continuación se muestran ilustraciones de la patología general observada frecuentemente en las aves de corral enfermas de influenza aviar altamente patógena. No es seguro que estos signos generales de la patología sean de aplicación para las aves silvestres expuestas a los virus de la influenza aviar altamente patógena.

FIGURA 6



Hemorragias localizadas en los atrios y el pericardio

CRÉDITO: USDA

FIGURA 7



Hemorragias de los folículos ováricos

CRÉDITO: USDA

FIGURA 8

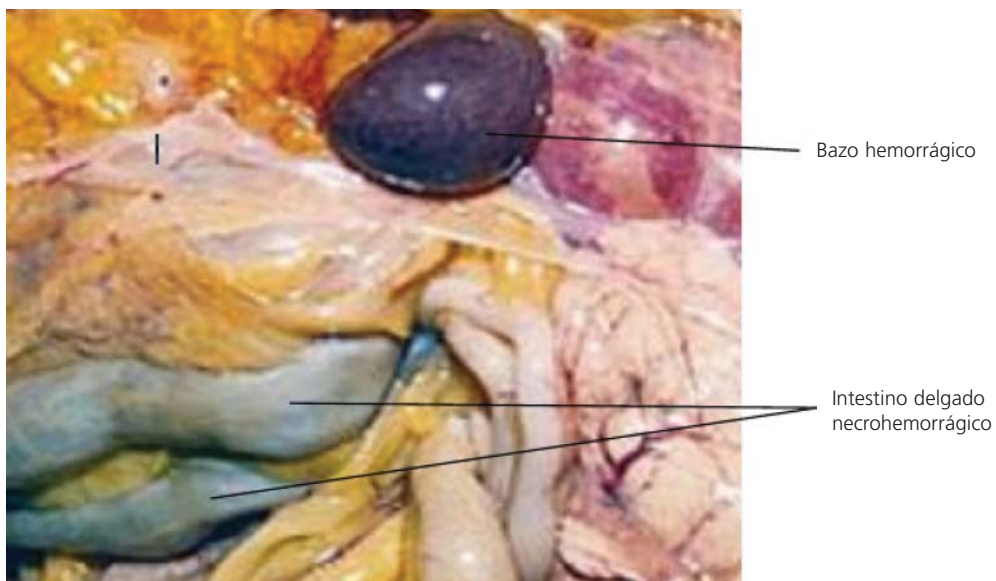
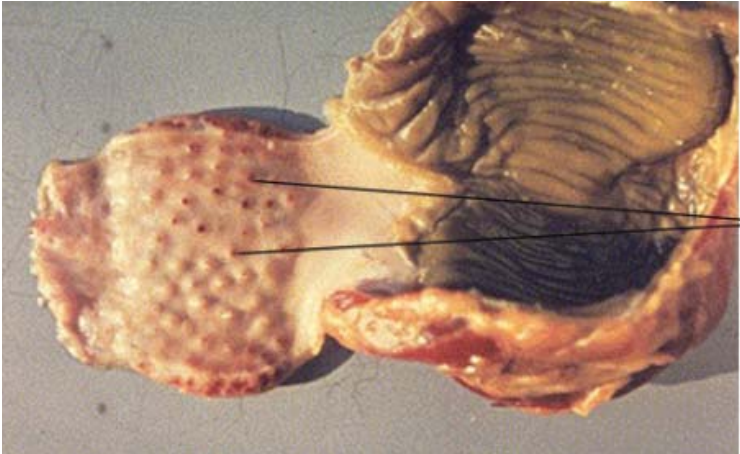


FIGURA 9



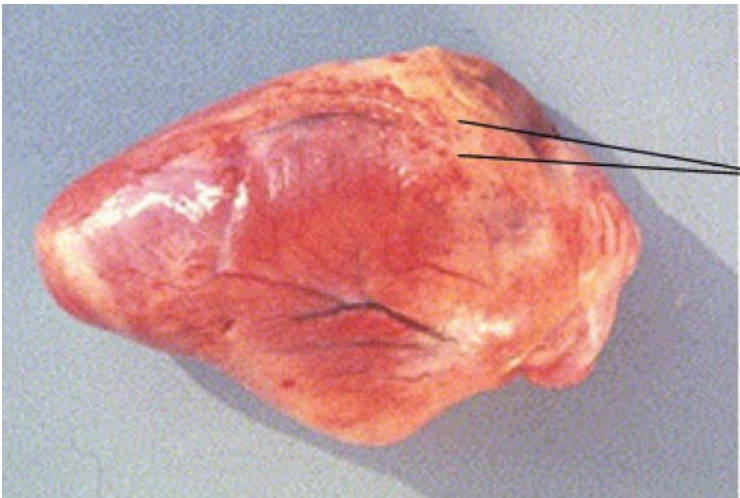
FIGURA 10



Proventrículo hinchado con hemorragias localizadas (molleja normal)

CRÉDITO: USDA

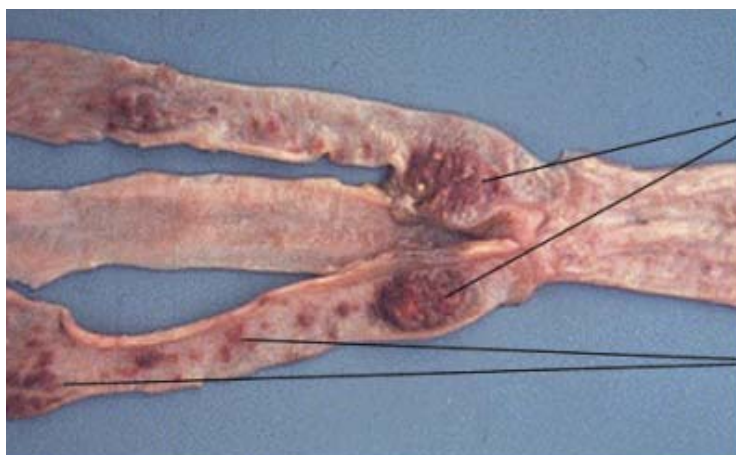
FIGURA 11



Necrosis cardiaca y hemorragia petequiral

CRÉDITO: USDA

FIGURA 12



Necrosis de las amígdalas
cecales

Hemorragia de la mucosa de
los ciegos

CRÉDITO: USDA

MANUALES DE PRODUCCIÓN Y SANIDAD ANIMAL DE LA FAO

1. Small-scale poultry production, 2004 (E, F)
2. Good practices for the meat industry, 2006 (E, F)
3. Preparing for highly pathogenic avian influenza, 2006 (E)
4. Vigilancia de la influenza aviar altamente patógena en las aves silvestres – toma de muestras de aves sanas, enfermas y muertas (E, S)

Disponibilidad: diciembre de 2006

Ar - Árabe	Multil - Multilingüe
C - Chino	* Agotado
E - Inglés	** En preparación
F - Francés	
P - Portugués	
R - Ruso	
S - Español	

Puede encontrar los manuales de producción y sanidad animal de la FAO en los distribuidores oficiales autorizados por la FAO o adquirirlos directamente al Grupo de Ventas y Comercialización, FAO, Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma (Italia).

MANUALES DE SANIDAD ANIMAL DE LA FAO

1. Manual on the diagnosis of rinderpest, 1996 (E)
2. Manual on bovine spongiform encephalopathy, 1998 (E)
3. Epidemiology, diagnosis and control of helminth parasites of swine, 1998
4. Epidemiology, diagnosis and control of poultry parasites, 1998
5. Recognizing peste des petits ruminant - A field manual, 1999 (E, F, A)
6. Manual on the preparation of national animal disease emergency preparedness plans, 1999 (E)
7. Manual on the preparation of rinderpest contingency plans, 1999 (E)
8. Manual on livestock disease surveillance and information systems, 1999 (E)
9. Recognizing African swine fever. A field manual, 2000 (E, F)
10. Manual on Participatory Epidemiology - Method for the Collection of Action-Oriented Epidemiological Intelligence, 2000 (E)
11. Manual on the preparation of african swine fever contingency plans, 2001 (E)
12. Manual on procedures for disease eradication by stamping out, 2001 (E)
13. Recognizing contagious bovine pleuropneumonia, 2001 (E, F)
14. Preparation of contagious bovine pleuropneumonia contingency plans, 2002 (E, F)
15. Preparation of Rift Valley fever contingency plans, 2002 (E, F)
16. Preparation of foot-and-mouth disease contingency plans, 2002 (E)
17. Recognizing Rift Valley fever, 2003 (E)

Datos del remitente	Datos del incidente
Nombre del remitente: _____	Fecha de observación: _____
Departamento/Organización: _____	Fecha del informe: _____
Dirección: _____	Localización (lugar exacto - con datos GPS _____
_____	si es posible): _____
_____	_____
Teléfono: _____	_____
No. de Fax: _____	_____
Teléfono móvil: _____	Propietario del terreno y acceso al mismo: _____
Correo electrónico: _____	_____
Firma: _____	_____

Datos sobre la fauna:

Especies afectadas (nombre común, género y especie): _____

Total de cada especie: _____ No afectados/normales: _____ Enfermos: _____ Muertos: _____

Edad aproximada de los animales afectados: Polluelo Joven Adulto

Sex of Affected Animals: Desconocido Macho Hembra

Descripción del incidente: _____

Condiciones medioambientales: Condiciones atmosféricas, lluvias recientes, condiciones marítimas, uso reciente de productos químicos en la zona, cambios en los niveles de las aguas de la capa freática, cambios en el manejo de los animales domésticos: _____

Signos clínicos en los animales: _____

Signos patológicos generales: _____

Gestiones realizadas: _____

Añada las páginas que considere necesario para dar una descripción exhaustiva y las observaciones adicionales pertinentes

Se considera que las aves acuáticas y las aves costeras son reservorios naturales para todos los subtipos de virus de la influenza aviar y que, en general, la mayor parte de los subtipos no provocan – o lo hacen muy raramente – enfermedades a la fauna silvestre. Sin embargo, la influenza de tipo A ha sufrido varias derivas y mutaciones genéticas resultantes en la cepa vírica de la influenza aviar H5N1, que causa morbilidad y mortalidad en muchas especies silvestres. Pese a que se han iniciado algunas tareas de vigilancia, es necesario investigar más el papel de los animales silvestres sanos en el transporte y diseminación de los virus.

Este manual proporciona orientaciones básicas para la supervisión de la fauna silvestre y la investigación de la enfermedad, sean cuales sean sus causas. Algunos capítulos del manual tratan los signos clínicos de la enfermedad infecciosa, las formas de manipulación de las aves y los métodos de toma de muestras, las formas de manipulación y transporte de las muestras y las técnicas diagnósticas. También se incluyen recomendaciones importantes para la desinfección y la seguridad personal.