

MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DE NOTIFICACIÓN Y ATENCIÓN DE SOSPECHAS DE INFLUENZA AVIAR Y ENFERMEDAD DE NEWCASTLE EN AVES DE CORRAL Y SILVESTRES



| Revisión | Versión |
|-----------|---------|
| Mayo 2021 | 2 |
| | |
| | |

Agradecimientos: Coordinación de Bacteriología y Virología de la Dirección General de Laboratorios y Control Técnico (DGLYCT) - SENASA

Contenido

| | |
|---|-----------|
| OBJETIVO | 3 |
| DEFINICIONES..... | 3 |
| NOTIFICACIÓN DE SOSPECHAS | 3 |
| 1. AVES DE CORRAL | 4 |
| 2. AVES SILVESTRES: | 4 |
| VIAS DE COMUNICACIÓN..... | 7 |
| PROCEDIMIENTO ANTE LA SOSPECHA | 7 |
| INSTRUCTIVO PARA LA EXTRACCIÓN DE MUESTRAS DE AVES DE CORRAL Y SILVESTRES..... | 9 |
| INFORMACIÓN ADICIONAL SOBRE LAS AVES SILVESTRES MUESTREADAS. | 12 |
| RECOLECCION DE DATOS DE AVES SILVESTRES | 13 |
| ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE LAS MUESTRAS..... | 13 |
| ACONDICIONAMIENTO: | 13 |
| ENVÍO DE LAS MUESTRAS | 14 |
| DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO | 15 |
| DIAGNOSTICO DE INFLUENZA AVIAR..... | 15 |
| DIAGNOSTICO DE LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE | 15 |
| CONFIRMACIÓN | 16 |
| FLUJOGRAMA DIAGNOSTICO DE INFLUENZA AVIAR | 17 |
| FLUJOGRAMA DIAGNOSTICO DE ENFERMEDAD DE NEWCASTLE..... | 18 |
| CONTACTOS | 18 |

NOTIFICACIÓN Y ATENCIÓN DE SOSPECHAS DE INFLUENZA AVIAR Y/O ENFERMEDAD DE NEWCASTLE

OBJETIVO

El objetivo primordial del instructivo es proporcionar información técnica al profesional del Senasa, sobre las acciones que se deben llevar a cabo ante la notificación de mortandad o sospecha de influenza aviar (IA) o Enfermedad de Newcastle (ENC) de declaración obligatoria, en aves de corral y silvestres con la finalidad de descartar o confirmar la sospecha.

En el caso de que se confirme la presencia de alguna de estas enfermedades las medidas de control y erradicación de las enfermedades contempladas en la legislación se deberán iniciar de manera inmediata.

DEFINICIONES

AVE DE CORRAL: designa todas las aves domesticadas, incluidas las de traspatio, que se utilizan para la producción de carne y huevos destinados al consumo, la producción de otros productos comerciales, la repoblación de aves de caza o la reproducción de todas estas categorías de aves, así como los gallos de pelea, independientemente de los fines para los que se utilicen.

AVE SILVESTRE: designa un ave cuyo fenotipo no se ha visto afectado por la selección humana y que vive independiente de la supervisión o el control directo de seres humanos.

OTRAS AVES CAUTIVAS: designa un animal cuyo fenotipo no se ha visto significativamente afectado por la selección humana, pero que está cautivo o vive bajo supervisión o control directo de seres humanos, incluidos los animales de zoológicos y las mascotas.

NOTIFICACIÓN DE SOSPECHAS

La notificación de aves de corral o silvestres o cautivas con signología atribuible a IA/ENC en todos los casos se efectuará en las oficinas locales del Senasa, a través de la aplicación "Notificaciones Senasa" o al correo electrónico notificaciones@senasa.gob.ar y es obligatoria para

- a) Los responsables o propietarios de las aves afectadas.
- b) Las personas responsables o encargadas de cualquier explotación avícola, industrial o doméstica.
- c) Los veterinarios privados.
- d) Cualquier autoridad nacional, provincial o municipal.
- e) Los responsables de los laboratorios de diagnóstico o investigación, que se encuentren o no incluidos en la Red de laboratorios del Senasa, pertenecientes a organismos nacionales o provinciales, privados o públicos.
- f) Cualquier persona que tome conocimiento de la existencia de aves enfermas o presumiblemente afectadas.

Debido a la variabilidad en los signos clínicos de ambas enfermedades se considerará la sospecha de IA/ENC ante la observación de alguno de los siguientes criterios, tanto para aves de corral (1) como en aves silvestres (2).

1. AVES DE CORRAL:

a) Observaciones clínicas y patológicas en las aves:

1. Reducción de la ingesta de alimento y agua superior al 20%, sin justificar.
2. Reducción de la producción de huevos superior al 5% durante más de dos días, sin justificar.
3. Un índice de mortalidad semanal superior a un 3%, sin justificar.
4. Un índice de mortalidad de fin de ciclo en pollos de engorde mayor o igual al 10%, sin justificar o justificación insuficiente.
5. Todo indicio clínico o lesión post-mortem que sugiera la presencia de IA /ENC.
6. Sintomatología nerviosa tortícolis, opistótonos, movimientos rítmicos laterales de la cabeza, temblores, ataxia, incoordinación, paresia o parálisis, espasmos clónicos, desorientación, nistagmo, alteraciones visuales, movimientos circulares y convulsiones

b) Observación epidemiológica

1. Si las aves han estado en contacto directo o indirecto con una explotación avícola que, se haya demostrado infectada con el virus de la influenza aviar /enfermedad de Newcastle
2. Si una explotación de cría o recria ha distribuido aves que, según se haya demostrado posteriormente, estuvieran infectadas con el virus de la influenza aviar.
3. Si existe la posibilidad de que las aves hayan estado expuestas al virus, por ejemplo, debido a la entrada en la explotación de personas, vehículos, etc.)

Los signos clínicos de influenza aviar de baja patogenicidad en las aves son extremadamente variables y dependen de factores como: especie afectada, edad, sexo, infecciones secundarias, inmunidad adquirida y factores ambientales.

2. AVES SILVESTRES:

1. La mortalidad afecta a una o a más especies.
2. El gran número de aves halladas muertas en el mismo lugar o área, prestando especial atención al incremento de la morbilidad y mortalidad de las mismas.
3. Las aves muertas se localicen cercanas a establecimientos avícolas.
4. Las aves muertas se localicen en zonas húmedas (lagunas, ríos, embalses etc.), y en particular cuando estas áreas se encuentren próximas a establecimientos avícolas.

ATENCIÓN: El contacto con aves silvestres es uno de los principales factores determinantes de focos de la enfermedad en las aves domésticas.

Signos clínicos y lesiones

El período de incubación de la influenza aviar es difícil de calcular y probablemente varíe en función de la cepa vírica y el hospedador, normalmente se indica un período de cinco a seis días, pero es probable que, para cada ave, el período oscile entre unas pocas horas y aproximadamente siete días.

Los **signos clínicos** son muy variables y se ven influidos por factores como la virulencia del virus infeccioso, la especie afectada, la edad, el sexo, las enfermedades coincidentes y el medio ambiente.

Entre los primeros signos cabe incluir la inapetencia, la reducción de la ingesta de agua y una mortalidad relativamente baja. Sin embargo, la enfermedad también puede aparecer repentinamente en una manada y muchas aves pueden morir sin signos premonitorios o con signos mínimos de depresión, inapetencia, plumas erizadas y fiebre.

En general, cuanto más tiempo sobreviven las aves más acentuados son los signos clínicos. El plazo para el desarrollo de los signos depende del virus, el hospedador y la dosis infecciosa inicial, así como del sistema de producción avícola. El virus se propaga más lentamente en las aves ponedoras enjauladas y las aves al aire libre que en los pollos de engorde.

Las gallinas infectadas por el virus de la influenza aviar de alta patogenicidad pueden poner al principio huevos de cáscara blanda, pero al poco tiempo dejan de poner huevos. A menudo las aves enfermas se sientan o se quedan paradas en un estado semi comatoso, tocando el suelo con la cabeza. Las crestas y las barbas están cianóticas y edematosas, y pueden tener hemorragias petequiales o equimóticas en las puntas. A menudo se produce diarrea acuosa profusa y las aves tienen una sed excesiva. La respiración puede ser dificultosa y puede apreciarse un lagrimeo excesivo. Pueden apreciarse hemorragias en zonas de la piel carentes de plumas. Los índices de mortalidad en las manadas oscilan entre el 50% y el 100%.

En los pollos de engorde los signos de influenza aviar de alta patogenicidad son a menudo menos evidentes que en otras aves de corral y, entre ellos, se incluyen a menudo depresiones graves e inapetencia y la primera anomalía observada puede ser un aumento muy notable de la mortalidad. Asimismo, pueden apreciarse edemas en la cara y el cuello, y signos neurológicos como tortícolis y ataxia.

En los pavos, la IA de alta patogenicidad es similar a la observada en las aves domésticas, pero algunos virus de la IA de alta patogenicidad se presentan con mayor virulencia en estas aves, mientras que otros se presentan con menor virulencia. Asimismo, puede ser severa cuando está asociada a infecciones secundarias.

En ñandúes puede ocurrir depresión, caída de plumas, respiración de pico abierto, además de parálisis de las alas y temblores de cabeza y cuello.

En los gansos infectados por el virus de la IA de alta patogenicidad, los signos de depresión, inapetencia y diarrea son similares a los de las gallinas ponedoras, aunque frecuentemente con senos hinchados. Las aves más jóvenes pueden presentar signos neurológicos.

Es posible que los patos no presenten ningún signo clínico cuando están infectados por el virus de la IA de alta patogenicidad, pero hay constancia de que algunas cepas víricas producen signos similares a los de los gansos, con algo de mortalidad.

Es posible que no haya signos clínicos en las infecciones de avestruces por virus de la IA de alta patogenicidad y de baja patogenicidad.

Las aves que mueren en una fase aguda pueden presentar lesiones macroscópicas mínimas, consistentes en la deshidratación y la congestión de vísceras y músculos.

En los cuerpos de las aves que mueren después de una evolución clínica prolongada se observan hemorragias petequiales y equimóticas, en especial en la laringe, la tráquea, el proventrículo y la grasa epicárdica, así como en superficies serosas adyacentes al esternón. Asimismo, se observa un edema subcutáneo amplio, en particular alrededor de la cabeza y los corvejones. El cadáver puede estar deshidratado. Puede haber focos necróticos amarillos o grises en el bazo, el hígado, los riñones y los pulmones. El alvéolo puede contener un exudado. El bazo puede encontrarse dilatado y hemorrágico.

La IA se caracteriza histológicamente por trastornos vasculares que dan lugar a edemas, hemorragias y manguitos perivasculares, especialmente en el miocardio, el bazo, los pulmones, el cerebro, el páncreas y las barbas.

Se dan focos necróticos en los pulmones, el hígado y los riñones. En el cerebro puede producirse gliosis, proliferación vascular y degeneración neuronal.

Los signos clínicos y lesiones más características de la Influenza aviar de alta patogenicidad y de la Enfermedad de Newcastle se encuentran resumidos en el siguiente cuadro:

| INFLUENZA AVIAR ALTAMENTE PATOGENA | ENFERMEDAD DE NEWCASTLE |
|--|--|
| SIGNOS CLINICOS | |
| Anorexia y depresión | Anorexia y depresión |
| Incoordinación y temblores | Incoordinación, temblores, opistótonos, tortícolis, parálisis y caída de las alas |
| Signos respiratorios severos con sinusitis | Signos respiratorios |
| Diarrea | Diarrea verdosa brillante |
| Edema facial. Crestas y barbillas tumefactas y cianóticas | |
| Alta mortalidad | Alta mortalidad |
| SIGNOS POST MORTEM | |
| Pancreatitis | Hemorragias del Proventrículo |
| Focos necróticos en bazo | Focos necróticos en bazo |
| Enteritis | Necrosis en la tonsilas cecales y nódulos linfáticos en el intestino |
| Órganos internos congestivos | Congestión pulmonar |
| | Petequias y exudado en la mucosa traqueal |

El cuadro clínico de la enfermedad puede ser común a otras enfermedades que cursen con síntomas respiratorios como son el Cólera Aviar, Laringotraqueítis aviar y Bronquitis infecciosa aviar, pero la rápida evolución del cuadro clínico y muerte de los animales, puede servir para descartar estas últimas. Un signo muy indicativo de la Influenza Aviar Altamente Patógena, es la alta mortalidad puntual de las aves.

La enfermedad es prácticamente indiferenciable de la enfermedad de Newcastle, que cursa con diarrea verdosa.

VIAS DE COMUNICACIÓN

Las vías de comunicación y competencias que deben mantenerse son las propuestas por la Coordinación General de Control Territorial en el Instructivo-Sistema de Notificaciones comunicado por ME-2021-04595771-APN-DESYCG#SENASA.

PROCEDIMIENTO ANTE LA SOSPECHA

Al recibir una notificación la primera medida será dar aviso inmediato a la Coordinación General de Control Territorial (#2355 ó 11 3698 8143; #2377 o 1136852674; notificaciones@senasa.gob.ar por intermedio de quien se articularán las medidas sanitarias a seguir y se acordará el envío de las muestras.

Dentro de las VENTICUATRO (24) horas de registrada una notificación, el veterinario local del Senasa deberá proceder a cumplimentar la Intervención Sanitaria en el predio y registrando el correspondiente Protocolo de Enfermedad de Notificación Obligatoria ingresando al SISTEMA INTEGRADO DE GESTIÓN DE SANIDAD ANIMAL (SIGSA) a través del “Portal de Aplicaciones” yendo a “sanitario”, “protocolo de enfermedades” nueva acta.

Las medidas sanitarias a implementar tendrán la intención de contener y evitar la dispersión del posible patógeno hasta tanto se descarte o confirme su presencia.

Entre ellas se incluyen:

1. Previo a la visita del establecimiento afectado, proceder al **BLOQUEO DE LA AUTOGESTIÓN** y de la emisión de movimientos. Es decir que se prohíbe la salida de aves que se encuentran en el establecimiento así como el ingreso de otras aves al mismo.

Durante el tiempo que dure la sospecha no podrán sacarse de la explotación cadáveres de aves de corral u otras aves cautivas, carne de aves de corral, incluidos los piensos de aves de corral, utensilios, materiales, desperdicios, guano, cama de aves de corral y otras aves cautivas, ni nada que pueda transmitir la influenza aviar/enfermedad de Newcastle, en cumplimiento de las medidas de bioseguridad oportunas, de forma que se reduzca al máximo el riesgo de propagación de la enfermedad.

No podrán sacarse huevos de la explotación, a excepción de los huevos enviados directamente a un establecimiento autorizado para la fabricación y/o tratamiento de ovoproductos, o para su eliminación, transportados con una autorización expedida por el organismo.

2. **Cargar en el SIGSA el protocolo de enfermedad** según el siguiente criterio:

- Motivo del protocolo: sospecha
- Síndrome: seleccionar el síndrome o evento que más se ajuste a la situación: síndrome respiratorio, síndrome nervioso, caída de postura o mortandad según Resolución Nro. 153/2021

3. Realizar la **INSPECCIÓN DEL ESTABLECIMIENTO AVÍCOLA** utilizando la "*Planilla de inspección de establecimientos avícolas*" La misma se encuentra disponible en intranet. Realizar una anamnesis exhaustiva de la granja y de los síntomas presentados en el establecimiento (RENSPA, edad de las aves, plan de vacunación, cantidad de aves, mortalidad, morbilidad, tipo de alimento proporcionado, constatar medidas de bioseguridad, movimientos realizados, visitas, etc...)

4. **INTERDICCIÓN DEL ESTABLECIMIENTO** afectado y de los establecimientos vecinos que por razones geográficas o de contacto justifiquen la medida. Se deberá realizar la comunicación de lo actuado al propietario y/o responsable mediante el labrado de un **ACTA DE CONSTATAción**. En la misma debe figurar en motivo de la inspección y la comunicación al productor de interdicción del establecimiento.

5. **CENSO** de todas las aves del establecimiento o local por categoría (identificando el número de aves halladas vivas, muertas y enfermas) e identificación y censo de otras especies animales presentes en la explotación.

6. Toma de muestras y envío al laboratorio oficial del Senasa. En todos los casos, las muestras deberán ser acompañadas del **PROTOCOLO DE ENFERMEDAD DE NOTIFICACIÓN OBLIGATORIA**, el **REGISTRO DEL CRIADOR** o en su defecto colocar en las observaciones del Protocolo de enfermedad de notificación obligatoria en las observaciones; las vacunas y fármacos utilizados, porcentaje de mortandad semanal y total y cualquier otra observación que enriquezca al diagnóstico.

7. **AISLAMIENTO** de todas las aves de manera de garantizar que no tomen contacto con otras aves.

8. Los **MOVIMIENTOS O TRASLADOS** de personas, otras especies animales, vehículos, alimentos, residuos o cualquier elemento capaz de transmitir la enfermedad, estarán subordinados a la autorización de la Dirección Nacional de Sanidad Animal (DNSA) o a las personas que el Senasa designe.

En caso de detectarse el **TRÁNSITO** de aves susceptibles a IA/ENC, productos o subproductos de aves, sin la autorización correspondiente, serán considerados de tránsito ilegal y de alto riesgo sanitario; realizándose en forma inmediata su decomiso y posterior sacrificio sanitario o destrucción, sin tener derecho el titular de los mismos a indemnización alguna.

9. Una vez finalizada la inspección y la aplicación de las primeras medidas sanitarias y remisión de muestras debe **CARGAR LOS SIGUIENTES ANTECEDENTES SANITARIOS** en el SISTEMA ÚNICO DE REGISTROS:

- **INSPECCION ESTABLECIMIENTO AVICOLA**
- **MUESTREO SOSPECHA DE IA/ENC** e indicar en el recuadro de descripciones el motivo de la notificación. (Ejemplo: elevada mortandad sin justificar o con justificación insuficiente, descenso en la producción de huevos, caída de consumo/agua, mortandad semanal del 3%, signos clínicos compatibles con IA/NC, etc...) y adjuntar acta de constatación, imágenes y documentación pertinente.

Se deberán remitir las actuaciones realizadas, así como un informe técnico de la investigación realizada en terreno, incluyendo las medidas de control a las que fueron sometidos los animales afectados durante dicha investigación (cuarentena, prohibición del movimiento, disposición de cadáveres, etc.). La información deberá ser canalizada a través de la Coordinación General de Control Territorial

Si se confirmara por pruebas de laboratorio el aislamiento de los virus de Influenza Aviar ó Enfermedad de Newcastle, se implementarán procedimientos destinados al control y rápida erradicación de la enfermedad dispuestos en los “Manuales de Procedimientos Contingencia de la Influenza aviar o de la Enfermedad de Newcastle “respaldados por las Resoluciones SENASA N.º 73/2010 y N.º 683/1996 disponibles en intranet o página web del Senasa.

En caso de **NO detectarse** la secuencia específica de influenza aviar tipo A y del agente causal de la Enfermedad de Newcastle (Paramyxovirus aviar tipo 1) de declaración obligatoria mediante la técnica RT-PCR en tiempo real se deberá proceder al levantamiento de la interdicción y la finalización de las actuaciones en el establecimiento.

En el caso de **aves silvestres** se deberán registrar la especie y otros datos que se detallan más adelante en el documento.

INSTRUCTIVO PARA LA EXTRACCIÓN DE MUESTRAS DE AVES DE CORRAL Y SILVESTRES.

Se recuerda que la influenza aviar/ enfermedad de Newcastle son enfermedades zoonóticas. La transmisión se produce por contacto indirecto a través de vehículos (autos, celulares, ropa, calzados, etc.) o bien por contacto directo.

El contacto directo puede ocurrir en el manipuleo de aves enfermas o sospechosas o durante el desarrollo de actividades que impliquen el contacto con fluidos o excreciones de animales.

Los animales infectados eliminan el virus con sus excreciones, y secreciones, particularmente la materia fecal es altamente infecciosa. El contagio en el hombre se puede producir tanto por vía aerógena como por contacto a través de las mucosas.

Por lo anteriormente mencionado, se solicita tomar los recaudos necesarios para la toma de muestras y posterior envío al laboratorio.

La influenza aviar y la enfermedad de Newcastle pueden afectar a aves comerciales y a aves silvestres. Se deberá tener en cuenta que una mortandad de aves silvestres también deberá trabajarse como una sospecha de influenza aviar/enfermedad de Newcastle según se indica a continuación.

Materiales:

1. Viales tipo eppendorf (estériles).
2. Jeringas estériles de 2,5 ml a 3 ml con agujas 21G (de cono verde).
3. Guantes, mameluco descartable, cubre calzado, protección respiratoria, ocular
4. Gradillas, alcohol, marcador indeleble y algodón.
5. Hisopos estériles de dracrón, rayón o fibra de poliéster (no de algodón ni de alginato de calcio) con palillo de plástico (no madera)
6. Tubo de polipropileno transparente, fondo redondo, dimensiones (mm) 11 x 55, volumen (ml) de 3 a 4. Con tapón a presión con aletas o tapón a rosca.
7. Solución fisiológica de Cloruro de sodio al 0,9%, estéril, sachet por 100 ó 250 ml, para utilizarla como medio de transporte.
8. Tijera (para corte de los cabos de los hisopos)
9. Conservadora y refrigerantes

Procedimiento de extracción de las muestras

b.1 Sangre

Procedimiento: Por punción de la vena cubital (ala): Colocar el ave en posición de decúbito lateral, extender el ala, mojar con algodón húmedo y / o levantar las plumas sobre la cara ventral de la base ósea de eje humeral, identificar la vena la cubital (vena del ala), presionar para ingurgitarla y extraer como mínimo 2.5 ml de sangre.

Para obtener un suero sin hemólisis, se debe transferir la sangre de la jeringa al tubo cuidadosamente, dejando que la sangre escurra por la pared lateral del tubo. Nunca se debe vaciar la sangre de forma brusca ni en el fondo del tubo. Evitar agitar los frascos o tubos mientras se deja que la sangre repose para separar el suero.

¡Atención!: las muestras de sangre deben centrifugarse y enviarse solo suero libre de hemólisis.

b.2 Hisopado

- Cloacal: Uno por ave. Levantar las plumas de la cola despejando la zona cloacal e introducir el hisopo en la cloaca, girar el hisopo 2 ó 3 veces hasta obtener una muestra de materia fecal

abundante (que se pueda observar material en el hisopo a simple vista) y luego cortar de inmediato el extremo del hisopo que estaba en contacto con la mano y sumergir el resto en el tubo previamente identificado. Los mismos deben estar sumergidos en PBS o solución fisiológica estéril hasta cubrir la cabeza del hisopo (de 3 a 5 ml por pool). **Se deben remitir hasta CINCO (5) hisopos por tubo.**

-Traqueal: Uno por ave. Levantar la cabeza del ave, abrir el pico, extraer suavemente la lengua e introducir el hisopo en la tráquea girando 2 ó 3 veces (al extraer la lengua se hace bien visible el orificio traqueal). Pasar un hisopo por ave y luego cortar de inmediato la extremidad del hisopo que estaba en contacto con la mano y sumergir el resto en el tubo previamente identificado. Los mismos deben estar sumergidos en PBS o solución fisiológica estéril hasta cubrir la cabeza del hisopo (de 3 a 5 ml por pool). **Se deben remitir hasta CINCO (5) hisopos por tubo.**

- Orofaringeo: Uno por ave. Levantar la cabeza del ave, abrir el pico, movilizar el hisopo 3 a 4 veces tomando contacto con las paredes de la cavidad orofaríngeo y luego cortar de inmediato la extremidad del hisopo que estaba en contacto con la mano y sumergir el resto en el tubo previamente identificado. Los mismos deben estar sumergidos en PBS o solución fisiológica estéril hasta cubrir la cabeza del hisopo (de 3 a 5 ml por pool). **Se deben remitir hasta CINCO (5) hisopos por tubo.**

NOTA: los hisopados traqueales, cloacales y orofaríngeos NO pueden mezclarse entre ellos, es decir que no puede ir un tubo con una mezcla de hisopos diferentes.

Tipo, cantidad y conservación de las muestras

La toma de muestras se realizará por parte de los Veterinarios oficiales del Senasa, teniendo en consideración los siguientes criterios:

1. Preferentemente extraer muestras de **SUERO de aves enfermas**, en un número total de 20 (o de la totalidad si la cantidad de aves es menor a 20). Se debe enviar 1 ml de suero como mínimo (extraer 2.5 a 3 ml de sangre). **NO ENVIAR SANGRE ENTERA**. Los sueros deberán ser conservados y transportados desde su obtención hasta su envío al laboratorio refrigerados a (+2°C a +8°C) en un periodo que no supere las 72 horas, siendo el plazo ideal inferior a las 24 horas. Si no fuera posible garantizar el transporte al laboratorio en menos de 72 horas, las muestras deberán entonces ser congeladas a -20°C y transportadas sin romper la cadena de congelación (las muestras no deberán ser congeladas a menos que sea absolutamente necesario).
2. **HISOPADO traqueal u orofaríngeo u cloacal:** Se debe tomar 20 hisopos y colocarlos en pool de 5, es decir, remitir 4 pooles. Los hisopos deben estar sumergidos en solución PBS o fisiológico estéril hasta cubrir la cabeza del hisopo (de 3 a 5 ml por pool). Los hisopos cloacales deberán contener muestra suficiente (óptimo 1 gr.). Si por alguna razón resultase imposible tomar hisopo cloacal de un ave viva, alternativamente se podrá recoger muestra de heces frescas.

Las muestras de hisopos deberán ser conservadas y transportadas desde su obtención hasta su envío al laboratorio a (+2°C a +8°C) en un periodo que no supere las 72 horas, siendo el plazo ideal inferior a las 24 horas.

No mezclar hisopos cloacales con traqueales u orofaríngeos en un mismo pool, ni animales de distintas especies.

3. En el caso de hallar AVES recientemente MUERTAS (menos de 24 horas de acuerdo a las condiciones climáticas) se deberán coleccionar al menos 5 cadáveres y en el caso de aves moribundas se deberán sacrificar en forma benéfica por el veterinario de Senasa. Las aves enteras deberán enviarse de forma inmediata en bolsas de polietileno que no pierdan su contenido. Los cadáveres se remitirán refrigerados (+2°C a +8°C) al laboratorio en un plazo máximo de 72 horas. En el caso de aves silvestres de vida libre, si es posible, se deberán hisopar aves sanas que compartan el mismo ambiente, dando prioridad a las aves que viven en tierras húmedas junto a las aves afectadas
4. Si bien no está indicado realizar necropsias por la potencial dispersión de la enfermedad, en caso de realizarla, se recomienda el envío de órganos en bolsa de polietileno estéril o recipiente estéril: tráquea, pulmón, bazo, hígado e intestino (tonsilas cecales). Los intestinos se deben acondicionar en forma separada al resto de los órganos. Si las aves presentan signos nerviosos: encéfalo o directamente la cabeza del ave. Los órganos se remitirán refrigerados (+2°C a 8°C) al laboratorio en un plazo máximo de 72 horas.
5. Enviar **ALIMENTO (opcional)**: cantidad mínima 1 Kg, con doble bolsa plástica, por muestra de galpón y además del silo. Y en caso de existir stock remanente.

INFORMACIÓN ADICIONAL SOBRE LAS AVES SILVESTRES MUESTREADAS.

1. Todas las aves muestreadas deben ser identificadas, al menos, hasta la especie. Cuando sea posible, se debe aportar información sobre la edad, sexo, peso, condición corporal del ave y anillado.
2. Para corroborar la identificación exacta de las aves, se solicita que se fotografíe toda ave muestreada, lo que permitiría, a posteriori, obtener información precisa sobre la edad, sexo y condición corporal de las mismas. Las fotos deben tener un código que permita relacionarlo con el de las muestras tomadas (se puede colocar un papel con el código al lado del ave cuando se toma la foto). La fotografía es imprescindible en el caso de aves que no hayan podido ser reconocidas por el personal que tomó la muestra.
3. Las fotografías deben ser digitales y deben ser hechas lo antes posible después de la toma de muestras. Es muy útil que junto al ave fotografiada aparezca algún objeto que sirva de referencia para poder apreciar bien el tamaño.

Las fotos se deben tomar de la siguiente manera:

- ✓ AVE COMPLETA: por su lado dorsal, con un ala extendida y con la cola extendida y visible
- ✓ CABEZA: de perfil, viéndose claramente el pico.
- ✓ COLA: de los extremos de las plumas de la cola, que pueden ayudar a valorar la edad del animal.
- ✓ PARTE VENTRAL: En condiciones ideales, también se deben tomar fotos de la parte ventral del ave.

En estas fotos se debe apreciar las patas y los dedos, que pueden resultar también útiles para identificar la especie. También debe apreciarse la anilla, si estuviera presente.

RECOLECCION DE DATOS DE AVES SILVESTRES

La información recogida en el caso de aves silvestres muestreadas debe incluir:

1. Localización geográfica mediante utilización de coordenadas.
2. Descripción de la zona de captura (océano, lago, río, estanque, etc) y su distancia a pueblos, granjas de aves.
3. Tiempo desde que se inició el evento.
4. Número y tipo de otras aves silvestres presentes en el área de captura que no fueron muestreadas. Se le debe prestar especial atención a las aves que muestren signos de enfermedad pero que no pudieron ser muestreadas. Registrar la cantidad de animales afectados y su sintomatología.
5. Si es posible, información sobre los movimientos normales de aves silvestres en el área de captura.

ACONDICIONAMIENTO Y ENVÍO DE LAS MUESTRAS

Acondicionamiento:

Embalaje primario:

- El recipiente primario debe ser hermético.
- En el caso de que se vayan a mandar varios recipientes primarios, cada uno de ellos deberá ser envuelto individualmente para evitar posibles daños
- Cuando se calcule el volumen de las muestras que se van a enviar, se debe tener en cuenta el volumen del medio de transporte.
- Colocar la/s muestra/s de tal forma de no producir derrames.
- Colocar las muestras identificadas correspondientes a un mismo predio en una bolsa de nylon o bolsa conservadora, identificando esta última con el N° de RENSPA o titular del predio.
- Colocar refrigerantes en cantidad suficiente considerando el tiempo de duración del transporte, cerrar y sellar la tapa. Tener en cuenta que cuanto menor espacio “libre” en la conservadora, las muestras se mantendrán refrigeradas por mayor cantidad de tiempo

Embalaje secundario:

- El contenedor secundario debe contener el suficiente material absorbente para absorber todo el contenido de los embalajes primarios en caso de rotura o filtraciones
- Debe ser hermético.
- Acondicionar el embalaje primario de tal forma conteniendo las muestras en cajas de telgopor, de forma tal de evitar roturas y derrames.

Embalaje terciario:

- Se deberá poner, cuando sea necesario, hielo seco o húmedo alrededor de embalaje secundario. En el caso de emplear hielo seco, el envoltorio debe permitir la salida del dióxido de carbono para evitar incrementos de presiones que lleven a la ruptura del paquete. Si se usa hielo húmedo, el embalaje será a prueba de goteo.
- En el exterior de la caja debe adherirse un sobre de polietileno conteniendo los protocolos correspondientes a las muestras remitidas.
- El embalaje externo debe introducirse en una bolsa sellada de plástico para protegerlo de la humedad.
- Colocar el protocolo de sospecha por FUERA y por DENTRO de la caja (recordar colocar Diagnóstico/s diferenciales/presuntivo/s y motivo).
- Logo de bioseguridad y/o en su defecto, un cartel que diga **SOSPECHA** en el exterior de la caja de encomiendas pegar etiqueta con la leyenda "refrigerado" /"congelado" según corresponda.

Envío de las muestras

Despachar las cajas a la DILAB. Cabe mencionar, que en aquellos Centros Regionales donde funcionen las Mesas de Entrada de Laboratorio Regional deberán ser remitidas a los mismos para su posterior envío a la MEM.

La MEM de la DILAB, está ubicada en Talcahuano 1660, Martínez (CP 1640), Provincia de Buenos Aires.

En caso de no remitir las muestras directamente a la MEM de la DILAB, deberán comunicarse con el Sr. Marcelo Girgenti, para el retiro de las muestras (encomiendas) en las terminales de ómnibus (Retiro) y aeropuertos (EZE - AET), al teléfono # 2978 ó 11 3179 8348, GDE: MARCELO.GIRGENTI y completar la Solicitud de retiro de encomiendas y enviarla a droguerodilab@senasa.gob.ar con copia a mgirgenti@senasa.gob.ar, acardoza@senasa.gob.ar, posterior al despacho de la encomienda.

La recepción de las muestras se realiza preferentemente de lunes a miércoles, en el horario de 8:00 a 16:00 hs.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

En este apartado no se describirá el tratamiento de las muestras ni el procedimiento detallado de las técnicas analíticas para el diagnóstico de la influenza aviar y Enfermedad de Newcastle, las cuales se encuentran contenidas en los procedimientos según Normas de Calidad vigentes de Dirección General de Laboratorios y Control Técnico (DGLYCT). Estos últimos siguen los lineamientos de los Laboratorios de Referencia Internacional para diagnóstico de influenza aviar.

El análisis de las muestras de notificación de sospecha de Influenza Aviar y Enfermedad de Newcastle, se realizará únicamente en el Laboratorio Central de Senasa, ubicado en Talcahuano 1660, Martínez, provincia de Buenos Aires.

DIAGNOSTICO DE INFLUENZA AVIAR

Una vez ingresadas las muestras a la mesa de entradas del laboratorio, los sueros deberán ser enviados al Departamento de Enfermedades de las Aves para la realización del diagnóstico serológico para la IA por las técnicas de ELISA multiespecie y/o IDAG, y en caso de serología positiva para influenza tipo A, deberá realizarse ELISA para H5 y H7. Se deberá confirmar los positivos a H5 y H7 o continuar la investigación epidemiológica hasta determinar el subtipo, mediante la técnica de HI.

Al mismo tiempo los hisopados se remitirán al Departamento de Biología Molecular para análisis virológico mediante RT-PCR en tiempo real del gen M, subtipos H5 y H7 y secuenciación para la determinación de la patogenicidad. De obtenerse un resultado positivo para gen M, se transferirá una alícuota de la muestra al Departamento de Enfermedades de las aves para realizar el aislamiento viral y determinar la patogenicidad *in vivo* (IPIV) y por secuenciación.

Todo resultado positivo se investigará mediante la realización de una encuesta epidemiológica según las pautas indicadas en el Capítulo 3 del Manual de Procedimientos de Contingencia de la Influenza Aviar.

DIAGNOSTICO DE LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE

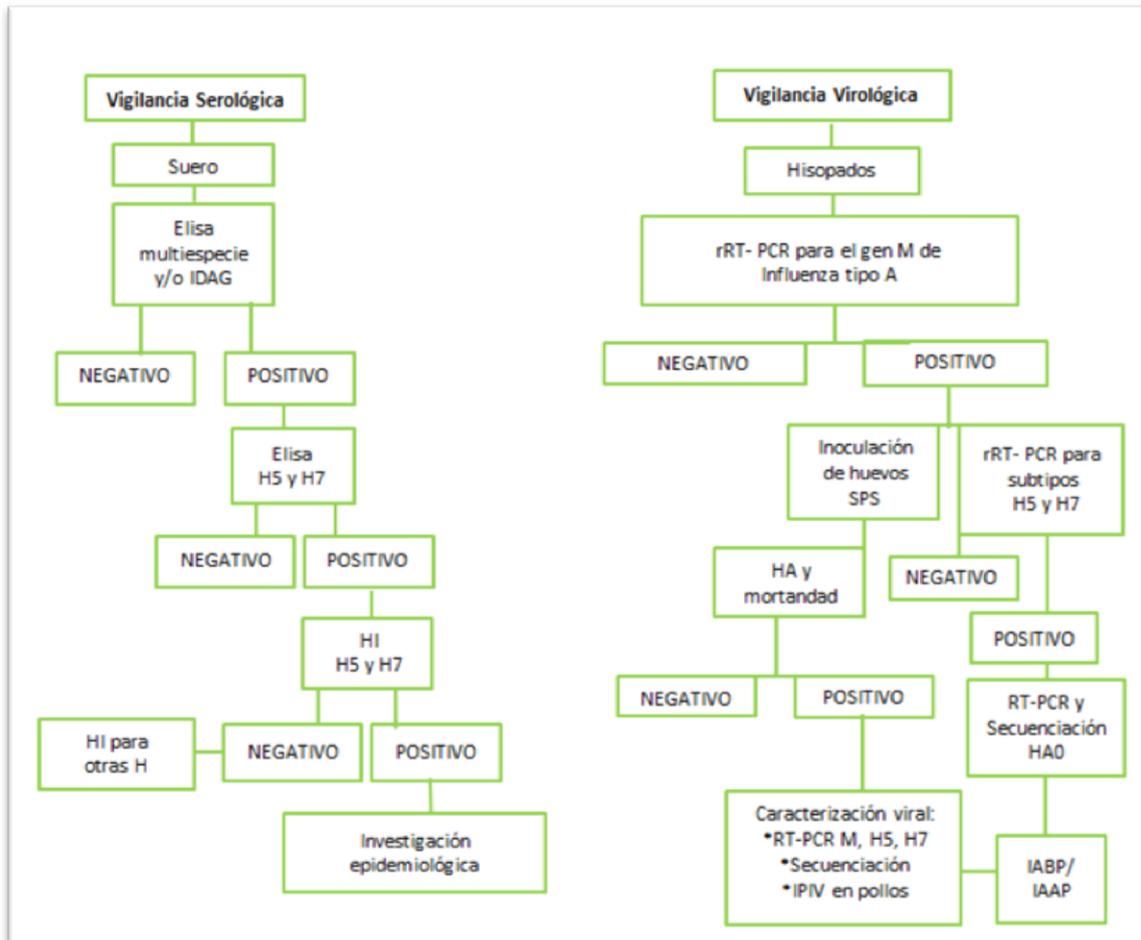
En caso de recibir sueros, de animales no vacunados, los mismos deberán ser enviados al Departamento de Enfermedades de las Aves para la realización del diagnóstico serológico para la determinación de ENC por las técnicas de ELISA (Indirecto y/o competitivo).

Los hisopados deberán ser enviados al Departamento de Biología Molecular para el diagnóstico por la técnica de RT-PCR en tiempo real para gen M, F y secuenciación de F0 para la determinación de la patogenicidad. De obtenerse un resultado positivo para gen M, se transferirá una alícuota de la muestra al Departamento de Enfermedades de las Aves para realizar el aislamiento viral y determinar la patogenicidad in vivo (IPIC) y por secuenciación.

CONFIRMACIÓN

La Dirección General de Laboratorios y Control Técnico podrá recurrir según considere necesario a los Laboratorios de Referencia Internacional enviando la muestra positiva/sospechosa para confirmación y obtención del diagnóstico definitivo conociendo el subtipo H, N y la secuenciación viral.

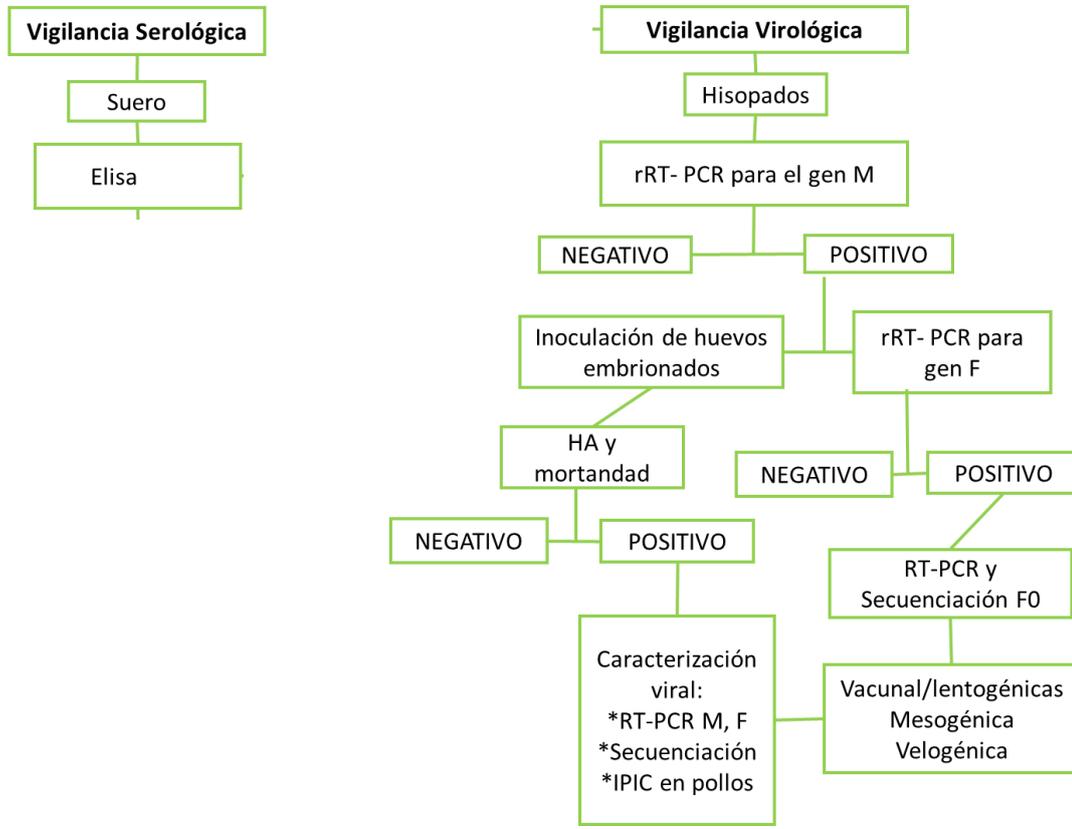
FLUJOGRAMA DIAGNOSTICO DE INFLUENZA AVIAR



Referencias:

HI: inhibición de la hemoaglutinación
rRT-PCR: Reacción en cadena de polimerasa en tiempo real
HA0: sitio de clivaje de la hemoaglutinina
IPIV: índice de patogenicidad intravenosa
HA: hemoaglutinación
IAAP: Influenza aviar de alta patogenicidad
IABP: Influenza Aviar de baja patogenicidad

FLUJOGRAMA DIAGNOSTICO DE ENFERMEDAD DE NEWCASTLE



Referencias:

rRT- PCR: Reacción en cadena de polimerasa en tiempo real

IPIV: Índice de patogenicidad intravenosa

F0: sitio de clivaje de la proteína F

CONTACTOS

| AREA | MAIL | COORPORATIVO |
|---|--|-----------------------|
| Coordinación General de Control Territorial | notificaciones@senasa.gob.ar | # 2355; #2377 |
| Coordinación General de Epidemiología | amarcos@senasa.gob.ar | # 1403 |
| Programa de Sanidad Aviar | avesygranja@senasa.gob.ar | # 1438 |
| Mesa de Entradas Laboratorio Central del SENASA | droguerodilab@senasa.gob.ar | 011 4874-6700 /6713 |
| | acardoza@senasa.gob.ar | # 379 |
| Sr. Marcelo Girgenti | mgirgenti@senasa.gob.ar | # 2978 ó 11 3179 8348 |