



MINISTERIO  
DE AGRICULTURA, PESCA  
Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE  
AGRICULTURA Y ALIMENTACIÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE  
GANADERÍA  
SUBDIRECCIÓN GENERAL DE  
SANIDAD ANIMAL

# PROTOCOLO DE REMISIÓN DE MUESTRAS DE INFLUENZA AVIAR

*REV. -OCTUBRE- 2006*

**DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA  
SUBDIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD ANIMAL**



# ÍNDICE

<b>1. Toma de muestras.....</b>	<b>Pág. 3</b>
<b>2. Cumplimentación de la hoja de remisión de muestras.....</b>	<b>Pág. 5</b>
<b>3. Remisión de muestras.....</b>	<b>Pág. 7</b>
<b>Anexo I: Definición y criterios de sospecha de Influenza Aviar en aves de corral.....</b>	<b>Pág. 9</b>
<b>Anexo II: Definición y criterios de sospecha de Influenza Aviar en aves silvestres.....</b>	<b>Pág. 10</b>
<b>Anexo III: Hoja de remisión de muestras de aves de corral y otras aves cautivas.....</b>	<b>Pág. 12</b>
<b>Anexo IV: Hoja de remisión de muestras de aves silvestres.....</b>	<b>Pág. 14</b>
<b>Anexo V: Información adicional sobre aves silvestres muestreadas.....</b>	<b>Pág. 16</b>

**LAS MUESTRAS QUE NO CUMPLAN LOS REQUISITOS ESTABLECIDOS NO SERÁN ANALIZADAS**

**1. TOMA DE MUESTRAS**

PLAN DE VIGILANCIA			
<b>AVES DOMÉSTICAS</b>	<p>En general: 5-10 muestras de <b>suero</b>/explotación o 5 muestras/nave <sup>(1)</sup></p> <p>En explotaciones de patos/ocas/codornices: 40-50 muestras de <b>suero</b>/explotación; 10-15 muestras/nave o parque (preferentemente de aves que se encuentren al aire libre)</p>		
<b>AVES SILVESTRES</b>	<p><b>Análisis virológico:</b> hisopo orofaríngeo/traqueal Y cloacal o heces frescas <sup>(2)</sup></p> <p><b>Análisis serológico:</b> adicional y opcional, con objeto de obtener mayor información epidemiológica. Se tomará <b>muestra de suero</b>.</p> <p>Cuando sea posible las muestras se tomarán de animales anillados. Las muestras de hisopos o de heces podrán ser analizadas en pools de 5, si bien los pools <b>sólo</b> se podrán preparar en el laboratorio.</p>		
SOSPECHA			
<b>AVES DOMÉSTICAS</b>	<p><b>Definición y criterios de sospecha: Anexo I</b></p> <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="text-align: center;"><b>Muestras</b></td> <td> <p><b>- Análisis virológico:</b></p> <p>20 hisopos orofaríngeos/traqueales Y 20 hisopos cloacales <sup>(2)</sup></p> <p>5 aves enfermas o muertas <sup>(3)</sup></p> <p><b>- Análisis serológico:</b></p> <p>20 sueros de animales enfermos o aparentemente recuperados <sup>(1)</sup></p> </td> </tr> </table>	<b>Muestras</b>	<p><b>- Análisis virológico:</b></p> <p>20 hisopos orofaríngeos/traqueales Y 20 hisopos cloacales <sup>(2)</sup></p> <p>5 aves enfermas o muertas <sup>(3)</sup></p> <p><b>- Análisis serológico:</b></p> <p>20 sueros de animales enfermos o aparentemente recuperados <sup>(1)</sup></p>
<b>Muestras</b>	<p><b>- Análisis virológico:</b></p> <p>20 hisopos orofaríngeos/traqueales Y 20 hisopos cloacales <sup>(2)</sup></p> <p>5 aves enfermas o muertas <sup>(3)</sup></p> <p><b>- Análisis serológico:</b></p> <p>20 sueros de animales enfermos o aparentemente recuperados <sup>(1)</sup></p>		
<b>AVES SILVESTRES</b>	<p><b>Definición y criterios de sospecha: Anexo II</b></p> <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="text-align: center;"><b>Muestras</b></td> <td> <p><b>- Análisis virológico</b></p> <p>Hisopos orofaríngeos/traqueales y cloacales o heces <sup>(2)</sup></p> <p>El ave muerta <sup>(4)</sup></p> <p><b>- Análisis serológico, adicional y opcional</b></p> <p>Muestra de suero</p> </td> </tr> </table>	<b>Muestras</b>	<p><b>- Análisis virológico</b></p> <p>Hisopos orofaríngeos/traqueales y cloacales o heces <sup>(2)</sup></p> <p>El ave muerta <sup>(4)</sup></p> <p><b>- Análisis serológico, adicional y opcional</b></p> <p>Muestra de suero</p>
<b>Muestras</b>	<p><b>- Análisis virológico</b></p> <p>Hisopos orofaríngeos/traqueales y cloacales o heces <sup>(2)</sup></p> <p>El ave muerta <sup>(4)</sup></p> <p><b>- Análisis serológico, adicional y opcional</b></p> <p>Muestra de suero</p>		

(1)



Se enviarán las muestras de suero una vez **eliminado el coágulo sanguíneo**.

**(2)** 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 completamente sumergidas en un medio tampón fosfato (PBS) con antibióticos **o en su defecto suero fisiológico/antibiótico**. En caso de no disponer de PBS o suero fisiológico, se podría utilizar un medio comercial **específico** para transporte de **virus**, pero en ningún caso se deben de utilizar medios de transporte para bacterias.

En las muestras fecales los **niveles de antibióticos** requeridos son:

- 10,000 IU/ml penicilina
- 10 mg/ml estreptomicina
- 0.25 mg/ml gentamicina
- 5,000 IU/ml nistatina

Estos niveles pueden reducirse 5 veces en el caso de los hisopos orofaríngeos/traqueales o en las muestras de tejidos.

Si se desea el control de *Chlamydothyla* se puede añadir 0.05–0.1 mg/ml de oxytetraciclina.

Las muestras de hisopos deberán ser conservadas y transportadas desde su obtención hasta su envío al laboratorio a 4°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 **-70°C** y transportadas sin romper la cadena de congelación, si bien las muestras **no deberán ser congeladas a no ser absolutamente necesario**.

**(3)** Los cadáveres procederán de aves que hayan muerto recientemente o de aves enfermas o moribundas que hayan sido sacrificadas humanitariamente.

Los cadáveres se remitirán refrigerados al laboratorio en un plazo máximo de 72 horas. Si se envían superando este plazo, se deberán enviar congelados.

**(4)** Cuando se considere que un cadáver de ave silvestre es una sospecha, se procederá a su fotografiado y a la toma de muestras in-situ o en el laboratorio. Hasta que no se complete el estudio analítico que permita descartar la sospecha, el cadáver se deberá mantener en refrigeración, preferentemente, o en congelación, sin destruirlo.



## 2. CUMPLIMENTACIÓN DE LA HOJA DE REMISIÓN DE MUESTRAS

Ver Anexos III, IV y V

A la hora de cumplimentar la hoja de remisión de muestras se considerará:

- **Ave de corral:** todas las aves que se crían o tienen en cautividad con objeto de producir carne o huevos destinados al consumo, así como para producir otros productos, repoblar poblaciones de aves de caza o para cualquier programa de reproducción de estas categorías de aves.
- **Ave silvestre:** las aves que viven en libertad y no en una explotación.
- **Otras Aves cautivas:** cualesquiera aves distintas de las de corral que se tienen en cautividad por razones distintas de las expuestas en el punto aves de corral, incluidas aquéllas que se tienen para muestras, carreras, exposiciones, concursos, reproducción o venta.

Al cumplimentar la hoja de remisión de muestras se prestará **especial atención a:**

- ✓ Rellenar una hoja para las muestras procedentes de cada tipo de ave: No mezclar en la misma hoja aves de corral con aves silvestres y/o otras aves cautivas. **Se debe rellenar una hoja de remisión por cada tipo de aves.**
- ✓ **Muy importante:** Señalar si la muestra se ha recogido en el marco del **plan de vigilancia** o es **SOSPECHA** y, en caso de aves silvestres, si está enferma pero viva o se ha hallado muerta.
- ✓ Señalar si las muestras se han recogido en:
  - Zona de Especial Riesgo/Zona de Especial Vigilancia
  - Zona de Protección/Zona de Vigilancia
  - Zona A/Zona B
  - Otras
- ✓ **Muy importante:** Identificar correctamente la **categoría de ave** en el caso de las **aves de corral** y la **ESPECIE** en el caso de las **aves silvestres**. En el caso de que la persona encargada de la toma de muestras no tenga conocimientos suficientes para identificar la especie, las muestras se

acompañarán de una **fotografía** del ave para que posteriormente un especialista pueda determinar la especie (**CONSULTAR ANEXO V**)<sup>1</sup>.



- ✓ Todos los datos del **remite**nte o persona responsable de las muestras para facilitar ponerse en contacto con él en caso necesario: Nombre, dirección, teléfono, teléfono móvil, correo electrónico.

---

<sup>1</sup> Las fotografías que ilustran este protocolo han sido cedidas por “*Brinzal*”, Centro de Recuperación de aves de Madrid.



## 4. REMISIÓN DE MUESTRAS

Toda muestra remitida al laboratorio debe ir correctamente embalada, de forma que se evite el riesgo de difusión del virus por el transporte. El embalaje conlleva tres fases sucesivas: primario, secundario y terciario.

### EMBALAJE PRIMARIO

- El recipiente primario debe ser estanco, p ej., con una tapa enroscable sellada con parafina, cinta adhesiva o similar.
- 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.
- Los recipientes primarios no deben contener más de 500 gr. o 500 ml.

### 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 estanco. En el momento de su empleo, se han de seguir las instrucciones del fabricante.
- Debe medir, en su superficie externa más pequeña, al menos 10 cm.
- Debe ser lo suficientemente grande para poder llevar los documentos necesarios del transporte.

### EMBALAJE EXTERNO

- No debe contener más de 4 litros o 4 kg.
- 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.

- Entre el embalaje secundario y el embalaje externo se debe incluir una lista detallada de los contenidos del paquete.
- El embalaje externo debe introducirse en una bolsa sellada de plástico para protegerlo de la humedad.

Las muestras serán remitidas mediante un servicio de transporte urgente al **Laboratorio Central de Veterinaria** (Carretera de Algete Km. 8, Algete, 28110 Madrid).

En el caso de **SOSPECHA** y con el fin de agilizar en la medida de lo posible el procesado de las muestras, se deberá notificar a la SG de Sanidad Animal y al Laboratorio del envío de las mismas mediante comunicación telefónica a través de los siguientes números:

☎ **679 43 46 33** SG Sanidad Animal (24 horas)

☎ **91 347 82 95** SG Sanidad Animal (Horario 8-19h)

☎ **91 629 03 00 / 91 347 82 92** (centralita del LCV) (Horario 8-15h)

☎ **91 347 92 59** (vigilancia del LCV) (24 horas)

☎ **618 74 00 09** (emergencia para la IA) (24 horas)



## ANEXO I

### DEFINICIÓN Y CRITERIOS DE SOSPECHA DE INFLUENZA AVIAR EN AVES DE CORRAL

**Definición:** Debido a la variabilidad en los signos clínicos de la enfermedad, una explotación se considerará como sospechosa de influenza aviar cuando cumpla alguno de estos criterios:

1. Reducción de la ingesta de pienso 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. Índice de mortalidad semanal superior a un 3%, sin justificar.
4. Todo indicio clínico o lesión post-mortem que sugiera la presencia de gripe aviar.



## ANEXO II

### DEFINICIÓN Y CRITERIOS DE SOSPECHA DE INFLUENZA AVIAR EN AVES SILVESTRES

Se considera **sospecha** en aves silvestres la detección de enfermedad o mortalidad de aves silvestres que pueda relacionarse con la aparición de Influenza Aviar, prestando **especial atención a aquellas especies objeto de muestreo en el programa de vigilancia activa**.

Los **criterios orientativos** para proceder a la recogida y remisión de muestras de cadáveres de aves silvestres para su posterior análisis laboratorial son los siguientes:

- Que se trate de una de las especies referenciada en la lista de la Tabla 1 u otras aves silvestres que vivan en contacto con éstas (medio acuático).

**Tabla 1.** Lista de especies silvestres que presentan un alto riesgo en relación a la Influenza Aviar.

Nombre científico	Nombre común
<i>Anas platyrhynchos</i>	Ánade azulón
<i>Anas crecca</i>	Cerceta común
<i>Anas clypeata</i>	Cuchara común
<i>Anas penélope</i>	Silbón europeo
<i>Anas acuta</i>	Ánade rabudo
<i>Netta rufina</i>	Pato colorado
<i>Aythya ferina</i>	Porrón europeo
<i>Aythya fuligula</i>	Porrón moñudo
<i>Anser anser</i>	Ánsar común
<i>Fulica atra</i>	Focha común
<i>Larus ridibundus</i>	Gaviota Reidora
<i>Vanellus vanellus</i>	Avefría Europea

- Que la mortalidad afecte a una o a más especies.
- El número de aves halladas muertas en el mismo lugar o área, prestando especial atención al incremento de la morbilidad y mortalidad de las mismas.
- Que las aves muertas se localicen en las zonas definidas de riesgo o de especial vigilancia por la Orden APA/2442/2006, de de 27 de julio, *por la que se establecen medidas específicas de protección en relación con la influenza aviar modificada por la Orden APA/2556/2006, de 3 de agosto*.



- Que las aves muertas se localicen en zonas húmedas (lagunas, embalses, ríos...), y en particular cuando estas áreas se encuentren próximas a explotaciones avícolas.

Se prestará especial atención en el programa de vigilancia pasiva al incremento de **mortalidad** de las aves de **vertederos**.



### ANEXO III

#### HOJA DE REMISIÓN DE MUESTRAS

#### PLAN DE VIGILANCIA DE LA INFLUENZA AVIAR EN AVES DE CORRAL Y OTRAS AVES CAUTIVAS 2006.

#### 1. DATOS GENERALES DE LA EXPLOTACIÓN

Nº registro																			
Comunidad Autónoma																			
Provincia										Municipio									
<b>*Muestra vigilancia ACTIVA/PASIVA cadáver/sospecha</b>																			
<b>Categoría</b>					<input type="checkbox"/> <b>Ave de corral</b>					<input type="checkbox"/> <b>Ave cautiva</b>					<b>Modelo de explotación</b>				
<input type="checkbox"/> Reproductora Gallina o broiler <input type="checkbox"/> Ponedora <input type="checkbox"/> Broiler <input type="checkbox"/> Pavos reproductores <input type="checkbox"/> Pavo engorde <input type="checkbox"/> Codornices <input type="checkbox"/> Faisanes					<input type="checkbox"/> Ocas <input type="checkbox"/> Palomas <input type="checkbox"/> Patos <input type="checkbox"/> Perdices <input type="checkbox"/> Pintadas <input type="checkbox"/> Ratites <input type="checkbox"/> Otras (-----)					<input type="checkbox"/> Baterías <input type="checkbox"/> Aviario <input type="checkbox"/> Parques exteriores									

#### 2. RELACIÓN DE MUESTRAS

Nº orden	Identificación	Nº orden	Identificación
1		6	
2		7	
3		8	
4		9	
5		10	

#### Tipo de Muestra

<input type="checkbox"/> Suero	<input type="checkbox"/> Hisopos cloacales	<input type="checkbox"/> Tejidos:
	<input type="checkbox"/> Hisopos orofaríngeos/traqueales	<input type="checkbox"/> Tráquea <input type="checkbox"/> Cerebro
	<input type="checkbox"/> Heces	<input type="checkbox"/> Corazón <input type="checkbox"/> Pulmón
		<input type="checkbox"/> Riñón <input type="checkbox"/> Intestino



**Las muestras proceden de:**

- Zona de especial riesgo
- Zona de especial vigilancia
- Zona de Protección\*\*
- Zona de Vigilancia\*\*
- Zona A\*\*
- Zona B\*\*
- Otras

**3. OBSERVACIONES**

\* Táchese lo que proceda, en caso de sospecha, deberá completarse la información en el punto 3 de observaciones.

\*\*En caso de declaración de foco



## ANEXO IV

### HOJA DE REMISIÓN DE MUESTRAS

#### PLAN NACIONAL DE VIGILANCIA DE INFLUENZA AVIAR EN AVES SILVESTRES 2006

##### 1. DATOS GENERALES

<b>Comunidad Autónoma</b>	<b>Coordenadas UTM</b>
<b>Provincia</b>	<b>Latitud</b>
<b>Municipio</b>	<b>Longitud</b>
<b>Paraje/Espacio natural</b>	
<b>Muestra vigilancia ACTIVA/PASIVA cadáver/sospecha*</b>	

##### 2. RELACIÓN DE MUESTRAS

(Emplear más hojas si el número de muestras excede de 15)

	<b>Identificación</b>	<b>Especie</b>	<b>Sexo</b>	<b>Edad</b>	<b>Engrasamiento</b>	<b>Anilla</b>	<b>Fecha</b>
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							



### Tipo de Muestra

<input type="checkbox"/> Suero	<input type="checkbox"/> Hisopos cloacales <input type="checkbox"/> Hisopos orofaríngeos/traqueales <input type="checkbox"/> Heces	<input type="checkbox"/> Tejidos: <input type="checkbox"/> Tráquea <input type="checkbox"/> Corazón <input type="checkbox"/> Riñón	<input type="checkbox"/> Cerebro <input type="checkbox"/> Pulmón <input type="checkbox"/> Intestino
--------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------

### Las muestras proceden de:

- |                                                  |                                                      |
|--------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Zona de especial riesgo | <input type="checkbox"/> Zona de especial vigilancia |
| <input type="checkbox"/> Zona de Protección**    | <input type="checkbox"/> Zona de Vigilancia**        |
| <input type="checkbox"/> Zona A**                | <input type="checkbox"/> Zona B**                    |
| <input type="checkbox"/> Otras                   |                                                      |

### 3. OBSERVACIONES

\* Táchese lo que proceda, en caso de sospecha, deberá completarse la información en el punto 3 de observaciones.

\*\*En caso de declaración de foco

## ANEXO V

### 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. Sería altamente recomendable que, para corroborar la identificación exacta de las aves, 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. 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. Se deben tomar fotos de:

~ El ave completa, por su lado dorsal, con un ala extendida y con la cola extendida y visible.



~ La cabeza, de perfil, viéndose claramente el pico.



~ De los extremos de las plumas de la cola, que pueden ayudar a valorar la edad del animal.

~ 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.



~ También deberá ser fotografiado cualquier otro detalle anormal.



4. La información recogida en el caso de aves muestreadas en las proximidades de un foco debe ser más exhaustiva. Por ello debe incluir:

~ Localización geográfica mediante coordenadas UTM del sitio de captura.

~ Descripción del sitio de la captura (lago, río, estanque, piscifactoría) y su distancia a pueblos, granjas de aves y cultivos.

~ 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.



~ Si es posible, información sobre los movimientos normales de aves silvestres en el área de captura.

~ Se debe distinguir entre el carácter silvestre o “semisilvestre” del animal, en el caso de aves como los ánades reales, en los que su comportamiento puede ser tanto migratorio como estante, siendo alimentados por el hombre.<sup>2</sup>

---

<sup>2</sup> Las fotografías que ilustran este protocolo han sido cedidas por “*Brinzal*”, Centro de Recuperación de aves de Madrid.