



MINISTERIO DE
AGRICULTURA, PESCA Y
ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA Y
ALIMENTACIÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL
DE SANIDAD ANIMAL

**PLAN DE VIGILANCIA DE LA INFLUENZA AVIAR EN AVES
DE CORRAL y AVES SILVESTRES EN ESPAÑA.**

Año 2005. (REFORZADO)

Programa específico de vigilancia en aves silvestres

7 de septiembre de 2005



PLAN DE VIGILANCIA DE LA INFLUENZA AVIAR EN AVES SILVESTRES EN ESPAÑA. Año 2005

1. INTRODUCCIÓN

El causante de la influenza aviar altamente patógena son algunos subtipos (H5 y H7) del tipo A del virus de la influenza (perteneciente a la familia *Orthomyxoviridae*). Es una enfermedad extremadamente contagiosa que en las aves de corral causa una elevada mortalidad. Sin embargo, se ha de tener presente que la mayoría de las cepas víricas de la influenza aviar son moderadamente patógenas provocando enfermedades subclínicas que afectan únicamente a aves silvestres y domésticas.

Numerosas publicaciones avalan el carácter cosmopolita y la amplia gama de aves silvestres que pueden infectarse por el virus de la influenza. Por otra parte, existe una significativa resistencia de este tipo de aves a padecer cuadros clínicos, a pesar de su receptividad a la infección. Si bien, en el año 2005 la enfermedad ha sido la causante de la muerte de numerosas aves silvestres en China, en las que se ha detectado la presencia de la cepa H5N1 en un punto considerado una importante cita de aves migratorias en sus rutas Asia- Europa

Numerosas publicaciones señalan que el virus puede ser aislado de aves silvestres, siendo la frecuencia mayor en anátidas que en otras especies. Se considera que este grupo de aves, y particularmente las migratorias, constituyen los hospedadores naturales del mismo, actuando como portadores. La transmisión del virus es feco-oral, por lo cual pueden verse infectadas explotaciones de aves de corral que tengan un sistema de explotación en parques al aire libre.

Por lo tanto, las aves silvestres son, dentro de la epidemiología de la influenza aviar, un factor determinante en el mantenimiento de cepas del virus de baja patogenicidad y en la posible introducción del mismo en las explotaciones de aves domésticas. Una vez que existe una recirculación del virus en poblaciones de aves de corral, siempre existe la posibilidad de una mutación y que los subtipos del virus no



patógeno se transformen, mediante una mutación, en un virus de alta patogenicidad, iniciándose a continuación una epizootia de la enfermedad.

2. ANTECEDENTES

Los únicos estudios sobre la prevalencia de los virus de influenza aviar tipo A en España ha sido realizados por un equipo de la Universidad de Córdoba en las marismas del Guadalquivir y en el Parque Nacional de Doñana entre los años 1985 y 1988 y a principio de los años 90. Desde entonces no existe ninguna cita bibliográfica que complete dichos estudios en la misma zona o en cualquier otra. En Europa, recientemente han sido publicados nuevos datos sobre la epidemiología de la influenza aviar en aves silvestres en Francia (Artois *et al*, 2002), Italia (De Marco *et al*, 2003; De Marco *et al*, 2004) y en el norte de Europa (Fouchier *et al*, 2003).

En España existe una importante carencia de datos, que contrasta con la posición estratégica que tiene la Península Ibérica en el sur de Europa, siendo además un país receptor de un importante volumen de aves migratorias desde el norte de Europa que invernán en nuestro país.

Arenas *et al*. (1990) publicó un estudio sobre 331 muestras serológicas de diversas especies de aves acuáticas de las siguientes áreas en Andalucía: río Guadalquivir, lagunas en el interior de Andalucía y en el oeste de Sierra Morena. El 40% de las aves analizadas fueron seropositivas mediante una prueba de ELISA. Un dato muy significativo es que un 43% de las anátidas fueron positivas. Por otra parte, mediante una prueba de inhibición de la hemaglutinación el número de aves positivas disminuye hasta un 10%. En este estudio se analizó la presencia de anticuerpos de los siguientes subtipos H1N1, H3N2, H3N8, H5N3, H7N7. No discriminándose en los resultados del mismo que porcentaje corresponde a cada uno de los subtipos, por lo que el dato aportado por el autor es global.

Posteriormente, Arenas *et al*. (1991) con muestras de aves recogidas en Doñana señala una positividad del 10% correspondiendo a cepas de los subtipos H3N8 y H1N1, no encontrándose ningún título de anticuerpos frente a los subtipos H5 y H7, que son los que intervienen en la influenza de alta patogenicidad.



Por otra parte, Astorga *et al.* (1994) confirmó una seropositividad del 6,2% a virus de influenza aviar subtipo A. Pero, al igual que en los estudios realizados por Arenas *et al.* (1990) no discrimina en el resultado el subtipo del virus de influenza aviar analizado, por lo cual podemos considerar que aunque los datos son indicativos, no permiten conocer la prevalencia de los subtipos H5 y H7, ni son concluyentes de cual es el riesgo real de circulación de virus de influenza aviar que podría afectar a las aves de corral en el sur de España.

Finalmente señalar que por parte de la Subdirección General de Sanidad Animal se dispone de resultados tanto serológicos como de detección del antígeno (específicamente frente a H5 y H7) realizados a partir de muestras analizadas en los años 2002, 2003, 2004. Habiéndose detectado en el 2004 un suero de *Anas platyrhynchos* procedente de la Albufera de Valencia un título positivo (1/128) al subtipo H7.

3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVO DEL PLAN DE VIGILANCIA

La importancia epidemiológica de las aves silvestres en el mantenimiento de virus tipo A de la influenza aviar ha justificado que la Comisión Europea haya considerado la necesidad de realizar un estudio de la prevalencia de los virus de influenza aviar en todos los estados miembros, así como su tipificación si se llegara a realizar algún aislamiento. La Decisión de la Comisión 2005/464/EC de 21 de junio, obliga a la elaboración de un Plan de Vigilancia de Influenza Aviar en el año 2005. En la misma se recoge específicamente la realización del plan en las aves silvestres, y se indican las líneas directrices que deberán seguir los Estados Miembros.

Además de la consideración anterior, el análisis de los datos sobre los muestreos realizados en España para la determinación de la Influenza Aviar con la detección de un suero positivo a H7 procedente de un ave silvestre, los resultados de los planes de vigilancia llevados a cabo en la Unión Europea durante el 2004, con la detección de muestras positivas a H5 y H7 en aves silvestres en varios Estados Miembros, la presencia de la enfermedad en un importante número de países del Sudeste Asiático, donde ha sido la causa de la mortalidad de numerosas aves silvestres en China, y la necesidad de ampliar los conocimientos científicos sobre la epidemiología de la enfermedad, justifican la necesidad de continuar y mejorar la



vigilancia que permita asegurar la ausencia o la presencia de la circulación del virus de Influenza Aviar subtipos H5 y H7 en las aves silvestres.

Recientemente, ante la aparición de varios focos de Influenza Aviar en aves de corral y en algunos casos en aves silvestres en Mongolia, Kazajstán y Rusia (Siberia) durante el verano de 2005, la Comisión Europea, ha valorado la nueva situación epidemiológica, y considera necesario revisar e intensificar los programas de vigilancia, que estaban ya planeados para 2005-06, con un incremento del muestreo de aves migratorias acuáticas a lo largo de sus rutas y que puedan suponer un riesgo para la introducción de la enfermedad.

Por lo tanto, este documento tiene por **objetivo** describir las medidas necesarias para la realización de un plan de estudio en España de la prevalencia de los subtipos H5 y H7 de la Influenza Aviar en las aves silvestres en el año 2005, habiéndose intensificado el número de muestras en aproximadamente un 50 % respecto al programa inicial previsto para 2005-06, y la inclusión de un programa de vigilancia pasiva, para la detección de mortalidad en aves silvestres causada por esta enfermedad.

4 PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO

La base para la realización del estudio en aves silvestres viene recogida en las líneas directrices de la Decisión de la Comisión 2005/464/EC de 21 de junio. Estas líneas directrices no señalan el número exacto de muestras que será preciso recoger pero si que deberán estratificarse en los siguientes porcentajes en función del tipo de ave:

- 70 % aves acuáticas
- 20% aves marinas
- 10% aves otro tipo de aves



Por otro lado, en el planteamiento de este estudio en España, se deben de tener en cuenta las siguientes consideraciones:

- Los mecanismos de perpetuación de los virus de influenza aviar en las aves acuáticas, las cuales actúan como reservorio del virus, no han sido totalmente aclarados. Una de las hipótesis, mantenida por el estudio realizado en Italia por De marco *et al.* (2003) sugiere que el virus continua circulando en las poblaciones de aves acuáticas durante todo el año.

- La Península Ibérica se encuentra en una de las dos rutas migratorias más importantes del Paleártico. De este modo, debido a los flujos migratorios hay que tener en cuenta que los orígenes de determinadas poblaciones de aves presentes en nuestro país difieren en función de la época del año. Así, en primavera y verano permanecen las aves reproductoras que posteriormente pueden migrar a sus cuarteles de invernada en África, mientras que durante el invierno permanecen las aves invernantes sedentarias o procedentes del norte y centro de Europa. Pudiendo durante los pasos migratorios encontrar en la Península Ibérica especies migratorias, que procedentes del Norte de Europa, pasan el invierno en el África Sub-sahariana.

- En este contexto, cabe resaltar que España tiene importancia internacional para el paso de aves acuáticas, limícolas y marinas, con dos rutas claramente diferenciadas: el **corredor atlántico**, que recorre la costa cántabro-atlántica, en la que reposan y se alimentan las aves en migración y el **corredor mediterráneo** que va a lo largo de los humedales de la costa mediterránea, hasta la costa sur-atlántica española, donde se localizan importantes áreas de invernada.

Como ya se ha dicho, la situación geográfica de España la convierte en un punto importante para la invernada de aves acuáticas. Acogiendo una media anual, aproximada, de un millón y medio de aves acuáticas. Por orden de importancia destacan los grupos de anátidas y fochas, que representan el 45% de la población total de invernantes. Las gaviotas ocupan el segundo lugar en importancia, suponiendo el 30% de las aves invernantes censadas, y el tercer lugar en importancia numérica lo ocupan las limícolas acumulando casi el 15% de las aves invernantes en España. Otros grupos de menor importancia son garzas, cormoranes, flamencos, zampullines y somormujos.



Por otro lado, las diferentes áreas de invernada en España no se reparten homogéneamente. De este modo, la mayoría de la población invernante se concentra en regiones costeras. Andalucía acoge de promedio el 27% del total de invernantes, seguida por Galicia y Cataluña, con cerca del 11% de la población total en ambos casos. Ninguna otra del resto de comunidades supera el 10% de invernantes: Aragón, Comunidad Valenciana, Extremadura y Castilla-La Mancha, acogen entre el 6% y el 8,5%, mientras que ninguna de las demás llega al 5%.

Estos hechos justifican que en el estudio que se plantea en España:

Se establezca:

A. PROGRAMA DE VIGILANCIA PASIVA

Basado en la detección de cualquier incremento anormal en la 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.

En estos casos se procederá a la recogida y remisión de muestras de cadáveres de aves silvestres para su posterior análisis laboratorial.

B. PROGRAMA DE VIGILANCIA ACTIVA

1. Se realicen dos muestreos, uno en **primavera-verano** y otro en **invierno**, para tratar de comprender mejor cual puede ser la epidemiología del virus.
2. Que dada la importancia de España como área de invernada para aves acuáticas y el papel epidemiológico de las anátidas en la influenza aviar, el planteamiento del muestreo se realice teniendo especialmente en cuenta la situación en invierno.
3. Atendiendo a la distribución de los censos (Tabla 1) y de las diferentes áreas de invernada en España, se estratificara la toma de muestras en cuatro áreas geográficas (Figura 1):

Zona Norte	Zona Mediterránea
Zona Centro	Zona Sur



Figura 1. Zonas de estratificación geográfica del muestreo





Tabla 1. Media anual de los distintos grupos de aves invernantes en las comunidades autónomas y en España, en el período 1990-2001.

	Número de aves invernantes	% del total nacional	% del total zonal
Zona Norte			
Galicia	177 019		59,3%
Asturias	54 253		18,2%
Cantabria	18 718		6,3%
País Vasco	48 360		16,2%
Total	298 350	19,40%	
Zona Centro			
Castilla-León	59 264		11,7%
Castilla- La Mancha	106 751		21,1%
Madrid	74 046		14,6%
Navarra	16 345		3,2%
La Rioja	2 673		0,5%
Extremadura	117 560		23,3%
Aragón	128 881		25,5%
Total	505 520	32,80%	
Zona Mediterránea			
Cataluña	167 185		53,2%
C. Valenciana	123 242		39,2%
Murcia	9 030		2,9%
Islas Baleares	14 963		4,8%
Total	314 420	20,40%	
Zona Sur			
Andalucía	418 699		99,1%
Islas Canarias	3 761		0,9%
Total	422460	27,40%	
TOTAL ESPAÑA	1 540 750	100%	

Fuente: "La invernada de aves acuáticas en España", Ministerio de Medioambiente, 2003.



4. El número de aves a analizar en cada una de estas zonas ha sido definido para asegurar el hallazgo de un animal infectado con una **prevalencia esperada del 1%**, con un **intervalo de confianza del 99%**. Este valor se encuentra en **458 muestras/zona** (Inicialmente se habían calculado 299 muestras/zona para una prevalencia esperada del 1%, con un intervalo de confianza del 95%).
5. Atendiendo a la distribución de los censos de aves invernantes en cada una de las zonas, y a las directrices, anteriormente citadas, de la Decisión de la Comisión 2005/464/EC de 21 de junio, que nos indican la estratificación de las muestras en función del tipo de ave, el número mínimo de aves que será preciso muestrear por categoría y zona queda resumido en las siguientes tablas:

Tabla 2. Número de muestras en la Zona Norte

Zona Norte	70% acuáticas	20% marinas	10% otras	Aves totales
Galicia	191	54	27	272
Asturias	58	17	8	83
Cantabria	20	6	3	29
País Vasco	52	15	7	74
Total	321	92	46	458

Tabla 3. Número de muestras en la Zona Centro

Zona Centro	70% acuáticas	20% marinas	10% otras	Aves totales
Castilla-León	38	11	5	54
Castilla- La Mancha	68	19	10	97
Madrid	47	13	7	67
Navarra	10	3	1	15
La Rioja	2	1	1	4
Extremadura	75	21	11	107
Aragón	82	23	12	117
Total	321	92	46	460



Tabla 4. Número de muestras en la Zona Mediterránea

Zona Mediterránea	70% acuáticas	20% marinas	10% otras	Aves totales
Cataluña	171	49	24	244
C. Valenciana	126	36	18	180
Murcia	9	3	1	13
Islas Baleares	16	4	2	22
Total	321	92	46	458

Tabla 5. Número de muestras en la Zona Sur

Zona Sur	70% acuáticas	20% marinas	10% otras	Aves totales
Andalucía	318	91	45	454
Islas Canarias	3	1	0	4
Total	321	92	46	458

6. **Muestreo de aves acuáticas:** El muestreo de aves acuáticas se realizara preferentemente sobre las siguientes especies pertenecientes en su mayoría a la familia **Anatidae**:

<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 moñado
<i>Anser anser</i>	Ánsar común
<i>Fulica atra</i>	Focha común

Además se incluyen en este otras especies de aves cuyo hábitat también está relacionado con las zonas húmedas: como la Avefría Europea (*Vanellus vanellus*), así como otras limícolas, grullas, cigüeñas, flamencos, garzas...



7. **Muestreo aves marinas:** Como aves marinas se recogerán preferentemente muestras de los siguientes órdenes:

Orden Charadriiformes: dentro del cual se encuentra la familia de las gaviotas: Gaviota Reidora (*Larus ridibundus*), Gaviota Argétea (*Larus argentatus*), Gaviota Patiamarilla (*Larus cachinnans*); charranes, pagazas y fumareles; y álcidos: Arao Común (*Uria aalge*), Alca Común (*Alca torda*), y Frailecillo Atlántico (*Fratercula arctica*).

Orden Pelecaniformes: dentro del cual destacamos al Cormorán Grande (*Phalacrocorax carbo*), Cormorán Moñudo (*Phalacrocorax aristotelis*) y Alcatraz Atlántico (*Sula bassana*).

Orden Procellariiformes: dentro del cual encontramos varias especies de pardelas y petreles.

8. **Muestreo en otro tipo de aves:** Dentro de la categoría de otras aves, se recogerán muestras de aves de la **familia Accipitridae**, que engloba a las rapaces diurnas, muestreando preferentemente especies migradoras. Además de aves de otros ordenes, algunas de las cuales pueden ser de potencial importancia por ser especies ubicuarias, entre los cuales destacamos el **orden columbiformes:** diversas especies de palomas y tórtolas, el orden de las **paseriformes**, y el orden de las **galliformes:** Perdiz Roja (*Alectoris rufa*), Codorniz Común (*Coturnix coturnix*)...

5 TOMA DE MUESTRAS

Las muestras a recoger en cada ave serán de dos tipos:

- **Suero**, para la detección de anticuerpos, obtenido a partir de la extracción de al menos 1 ml de sangre en tubos sin anticoagulante.
- **Hisopos cloacales o heces frescas**, para su examen virológico. Podrá realizarse un “pool” o mezcla de cinco muestras de la misma especie en el caso de las heces. Siempre y cuando sea posible (p.e. aves muertas) es recomendable que las muestras de suero y heces se complementen con una muestra de **hisopo traqueal**, o una parte de la siringe-tráquea para su examen virológico.

Cuando sea posible las muestras se tomarán de animales anillados. Las muestras serán conservadas desde su obtención hasta su envío al laboratorio a 4°C. Si no fuera posible garantizar el transporte al laboratorio en menos de 48 horas, las



muestras podrán entonces ser congeladas y transportadas en nieve carbónica a -70°C .

Las muestras irán acompañadas de una ficha (Anexo 1) debidamente cumplimentada, en la que se anotarán los datos del paraje donde se recogieron, la identificación de la especie a la que corresponden, referencia a la anilla en el caso de aves anilladas y determinados datos de interés epidemiológico. Se deberá garantizar correlación entre la muestra serológica y el hisopo.

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

6. EJECUCIÓN DEL MUESTREO

Para la ejecución del muestreo se contará con el Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos (IREC) perteneciente al Consejo Superior de Investigaciones Científicas y la colaboración de las Consejerías competentes de diversas Comunidades Autónomas.

7. DIRECTRICES PARA EL LABORATORIO PARTICIPANTE EN EL PLAN DE ESTUDIO

El Laboratorio designado para la realización del Plan es el Laboratorio Central de Veterinaria de Algete, perteneciente al Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Este laboratorio seguirá las directrices generales y las técnicas establecidas en el Plan Nacional de Estudio de Aves de Corral.

Las muestras de suero se analizarán mediante un análisis de inhibición de la hemoaglutinación (IH) con los antígenos suministrados por el laboratorio Comunitario de Referencia. El sobrante será congelado para constituir una seroteca.

Las muestras de hisopos o de heces serán analizadas en pools de 5, exceptuando aquellas pertenecientes a aves anilladas que se valoraran individualmente. La técnica analítica empleada en este caso consistirá en el aislamiento del virus en huevo embrionado y posterior análisis RT-PCR.



8. COMUNICACIÓN DE RESULTADOS

Todos los resultados serán comunicados, por parte del Laboratorio Central de Veterinaria, mediante un boletín oficial de resultados a la Subdirección General de Sanidad Animal y a la autoridad regional en la cual se haya recogido la muestra.

Las muestras que hayan resultado positivas serán enviadas al Laboratorio Comunitario de Referencia en Weybridge, Reino Unido:

- Muestras de **suero** para proceder a la caracterización de la neuraminidasa (N) en el caso de la detección de animales positivos a la hemaglutinina (H).
- Virus aislados para su caracterización.

Los envíos de material al Laboratorio Comunitario de Referencia se realizarán siguiendo el protocolo específico elaborado por dicho laboratorio.

9. ANÁLISIS ECONÓMICO

El número total de muestras que será preciso recoger en cada muestreo es de 1832, que por dos muestreos representa un total anual de 3664 muestras:

Muestras de hisopos cloacales: 3664 muestras que serán agrupadas para su análisis en pools de 5 muestras (excepto las procedentes de aves anilladas que serán analizadas individualmente) resultando un número mínimo de análisis de 733.

Muestras de sueros: 3664

El presupuesto se desglosa en la siguiente tabla, siendo el coste final del estudio de **23.796,39 €**.



PRESUPUESTO PLAN INFLUENZA AVIAR EN AVES SILVESTRES 2005

Concepto	Coste Unitario	Número de muestras	Coste total
A. Toma de muestras			
a.1. Hisopos			
Hisopo+medio PBS/antibióticos	1,10 €	3664	4.030,40 €
a.2. Suero			0,00 €
Tubos Venojet®	0,20 €	3664	732,80 €
Agujas	0,02 €	3664	73,28 €
SUBTOTAL A	21,32 €		4.836,48 €
B. Realización de serología: Inhibición de la hemoaglutinación (IH)			
b.1. Tubos, puntas de pipeta, bolsas de residuos y misceláneos.	0,60 €		
b.2. Placas de fondo en "V".	0,40 €		
b.3. Obtención de glóbulos rojos	0,60 €		
b.4. Reactivos	1,80 €		
SUBTOTAL B	2,80 €	3664	10.259,20 €
C. Aislamiento en huevos embrionados			
c.1. Tubos de plástico, puntas de pipeta, bolsas de residuos y misceláneos.	1,00 €		
c.2. Obtención de embriones	8,15 €		
c.3. Realización de serología: IH	2,72 €		
SUBTOTAL C	11,87 €	En pools de 5 muestras: (3664/5)= 733	8.700,71 €
TOTAL PROGRAMA AVES SILVESTRES 2005			23.796,39 €



ANEXO I

MINISTERIO
DE AGRICULTURA, PESCA
Y ALIMENTACIÓN

SECRETARIA GENERAL DE
AGRICULTURA Y ALIMENTACION
DIRECCION GENERAL DE
GANADERIA

[Empty rectangular box]

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL



**PLAN NACIONAL DE VIGILANCIA DE INFLUENZA AVIAR EN AVES SILVESTRES
2005**

1.-DATOS GENERALES

Comunidad Autónoma	Coordenadas UTM
Provincia	Latitud
Municipio	Longitud
Paraje/Espacio natural	

2.-RELACIÓN DE MUESTRAS (emplear más hojas si el número de muestras excede de 10)

Identificación	Especie	Sexo	Edad	Engrasamiento	Anilla	Fecha

3. OBSERVACIONES