



## OIE/FAO Lineamientos para la correcta aplicación e interpretación de resultados de diagnóstico de influenza aviar (IA) en muestras de suero.

### Introducción

El diagnóstico serológico de IA se debe realizar en dos pasos, a menos que el subtipo circulante en algún país sea conocido. El primer paso consiste en la detección de anticuerpos para cualquier subtipo de virus de IA. El segundo paso, se realiza con las muestras que dieron una reacción positiva en el paso número 1 lo que permite identificar al subtipo viral causante de la infección. Los reactivos que se deben utilizar en las pruebas diagnósticas deben ser certificados por la OIE y se deben seguir las indicaciones de los protocolos descritos en el manual de la OIE.

### Paso 1: Detección de anticuerpos al antígeno de grupo (tipo A).

Estas pruebas son capaces de detectar anticuerpos dirigidos a los antígenos de grupo de los virus de influenza A. La reacción antígeno-anticuerpo que se lleva a cabo es contra las proteínas de Matriz (M) y Nucleoproteína (NP). Estos antígenos están presentes en todos los virus de influenza A, independientemente de los subtipos de hemaglutinina (H) o Neuroaminidasa (N) que tengan en su superficie. Un resultado positivo en estas pruebas nos indica que las aves han estado en contacto con un virus de influenza tipo A pero **NO NOS DA INFORMACION** que nos permita deducir sobre el subtipo de virus de IA que ha causado la seroconversión

Subtipo de virus de IA que se utiliza en la producción del antígeno utilizado en la prueba no es un indicador de el virus que está causando el resultado positivo.

**AGID: Prueba de inmunodifusión en gel de agar.** Esta es una prueba simple y confiable para ser utilizada en sueros de pollo y pavo. Es una prueba muy específica pero con limitada sensibilidad, por esta razón se debe utilizar como una herramienta diagnóstica para determinar el estado de las parvadas y no de manera individual. La prueba puede realizarse en cualquier laboratorio con equipamiento básico. No tiene utilidad ni validez para el diagnóstico de aves acuáticas (patos, gansos) debido a que estas especies no producen anticuerpos precipitantes. Esta prueba no ha sido validada en otras especies aviares.

**ELISA: análisis inmunoenzimático en superficie sólida.** Esta es una prueba que requiere equipamiento de laboratorio más avanzado que debe incluir un lector de ELISA que es un espectrofotómetro adaptado para esta prueba. La prueba es alta sensibilidad, pero carece de especificidad. Para las pruebas de ELISA indirectas se debe tener mucho cuidado en asegurarse que el segundo anticuerpo de la prueba (anti-especie) sea dirigido contra la especie del ave del suero que estamos analizando. Las pruebas de ELISA competitivo tienen la ventaja de que el suero de cualquier especie puede ser analizado.

Se recomienda seguir las instrucciones del fabricante del Kit que se utiliza, y las consideraciones sobre la reactividad para otras especies que no están mencionadas en las especificaciones del kit deberán ser evitadas. NOTA: Reacciones serológicas positivas para el virus tipo A de IA en aves acuáticas (silvestres y domésticas) es un hallazgo común.

## **Paso 2: Detección de anticuerpos subtipo-específicos (subtipo de H).**

Estas pruebas se utilizan en el diagnóstico de aves que se conoce que están o estuvieron infectadas con el virus de IA. [ya sea por seguimiento a una reacción positiva en la prueba de detección de anticuerpos a antígenos de grupo (antígeno tipo A), o como resultado de una historia clínica]. Estas pruebas están diseñadas para identificar el subtipo de hemaglutinina del virus que está causando la seropositividad. **La prueba de inhibición de la hemoaglutinación (HI)** se utiliza para este propósito. Con el propósito de evitar el desperdicio de reactivos de diagnóstico se recomienda que la positividad serológica a virus de Influenza Aviar de Notificación Obligatoria (NAI) sea inmediatamente confirmada o eliminada. La prueba inicial deberá realizarse utilizando antígenos de los subtipos H5 y H7. al menos dos antígenos con el mismo subtipo de H pero con diferente subtipo de neuroaminidasa (p.ejem. H5N1 y H5N9 así como H7N1 y H7N3) deberán ser utilizados en el análisis inicial para el diagnóstico. Una prueba es considerada positiva si causa la inhibición de la actividad de hemoaglutinación con 4 unidades hemoaglutinantes (UHA) a una dilución de al menos 1:16 (4 logaritmo base 2)

Una posible ligera reacción cruzada con otros subtipos de H puede ser observada debido a la homología con el antígeno de neuroaminidasa. Sin embargo, esta reacción cruzada no debe ser mayor a una dilución 1:16 (4 log. Base 2). Esta reacción desaparece al utilizar otro antígeno con diferente neuroaminidasa.

### **Por Ejemplo.**

Una muestra de suero positiva a H9N2 con un título de 1:256 (log. base 2). Si esta muestra se prueba con un antígeno H5N2 una reacción positiva de inhibición puede ser observada a una dilución de 1:8 (3 log base 2) pero la misma muestra cuando se analiza con un antígeno H5N9 debe dar un resultado negativo.

## **En caso de serología positiva a un virus NAI**

En caso de la primera detección de anticuerpos a cualquier virus de los subtipos H5 y H7 en cualquier país, este resultado debe ser confirmado por un laboratorio de Referencia de la OIE. El seguimiento del caso debe ser encaminado a realizar un aislamiento viral tan pronto como sea posible **(en el predio afectado y en predios vecinos tomando muestras de órganos o hisopados traqueales y cloacales de animales en contacto con el caso)**