



**PROYECTO NACIONAL DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE
ENFERMEDADES AVIARES EXÓTICAS DE LA LISTA A DE LA OIE
Y BRONQUITIS INFECCIOSA RENAL
SAG – APA**

RESULTADOS AÑO 2007

Mayo de 2008

ÍNDICE

1.- INTRODUCCIÓN	3
2.- OBJETIVOS.....	5
3.- MATERIALES Y MÉTODOS	5
4.- RESULTADOS AÑO 2007.....	9
4.1.- Influenza Aviar (IA)	9
4.2.- Enfermedad de Newcastle (ENC).....	14
4.3.- Vigilancia en Aves Silvestres	19
4.4.- Bronquitis Infecciosa (BI).....	22
5.- CONCLUSIONES	24
6.- ANEXOS.....	25
Anexo N° 1: Obtención y Manipulación de las Muestras Obtenidas de Aves.....	25
Anexo N° 2: Sitios de Concentración de Aves Silvestres.	26
Anexo N° 3: Análisis filogenético de las cepas de ENC aislados de dos planteles de aves ornamentales y de un plantel de aves de traspatio.	27
Anexo N° 4: Análisis filogenético de las cepas de ENC, con un 97% de similitud a la cepa La Sota.	28

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N° 1: Tipo de muestra y métodos de diagnóstico según enfermedad.	5
Cuadro N° 2: Definición de caso de síndrome neurológico respiratorio en aves, Características y acciones a seguir.	8
Cuadro N° 3: Número de muestras analizadas por enfermedad durante el año 2007.	9
Cuadro N° 4: Número de muestras realizadas para vigilancia de IA según estrato de aves y regiones del país.	12
Cuadro N° 5: Número de muestras para vigilancia de ENC según estrato de aves y regiones del país.	17
Cuadro N° 6: Número y especies de aves capturadas y muestreadas para la vigilancia de IA y ENC en Chile durante el año 2007.	21

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1: Consumo per capita de carne de pollo y huevos en países de América del Sur, y sus poblaciones.	4
Gráfico N° 2: Porcentaje de muestras realizadas para IA, según los diferentes objetivos.	9
Gráfico N° 3: Número de planteles de aves programados y muestreados, según los estratos de aves.	10
Gráfico N° 4: Número de muestras programadas y realizadas para la vigilancia de Influenza Aviar en Chile.	11
Gráfico N° 5: Distribución temporal del número de muestras de vigilancia en IA.	13
Gráfico N° 6: Porcentaje de muestras realizadas para IA, según los diferentes objetivos.	14
Gráfico N° 7: Número de planteles o sectores de aves seleccionados y muestreados para ENC según estrato de aves.	15
Gráfico N° 8: Número de muestras programadas y realizadas para la vigilancia de Enfermedad de Newcastle en Chile.	16
Gráfico N° 9: Número de muestras de vigilancia en ENC distribuidas mensualmente.	18
Gráfico N° 10: Distribución del número de aves silvestres muestreadas en vigilancia.	19
Gráfico N° 11: Distribución temporal del número de aves silvestres muestreadas en vigilancia.	20
Gráfico N° 12: Número de muestras de BI según objetivos y regiones de Chile.	22
Gráfico N° 13: Número de muestras positivas y negativas de BI según diagnóstico y objetivos.	23

1.- INTRODUCCIÓN

La globalización y los cambios ambientales han generado modificaciones en los sistemas de salud animal a nivel mundial. El incremento de los intercambios comerciales; como la comercialización de animales, productos y subproductos, el incremento en el movimiento de personas a diferentes puntos del planeta en menos de 24 horas y los cambios climáticos que se han producido los últimos años por el aumento en la concentración de gases invernadero, que generan un aumento en la temperatura global y producen una alteración en los ecosistemas mundiales, pueden originar un impacto en la propagación y expansión de enfermedades infecciosas que afectan a seres humanos y animales, y podrían traer como consecuencia un mayor esfuerzo por parte de los sistemas sanitarios oficiales mundiales, frente al control de ingreso de enfermedades que afectan la salud animal, con efectos a nivel económico y social.

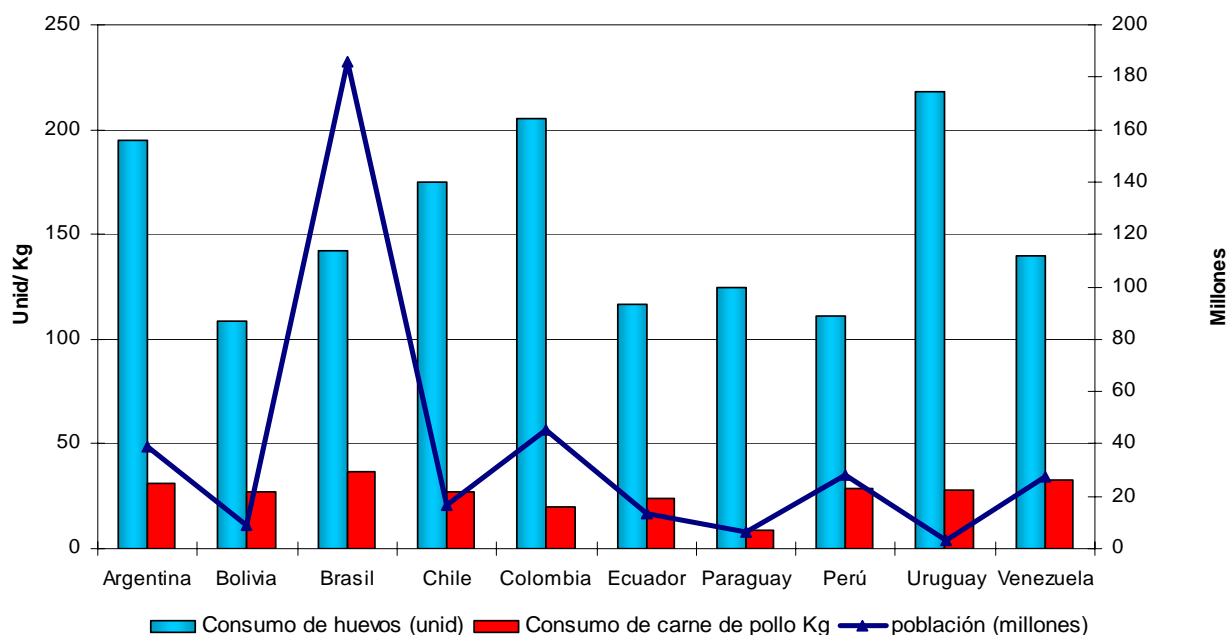
Las enfermedades transfronterizas de los animales o ENTRAS, son enfermedades de importancia económica y social, de fácil distribución a otros países que pueden llegar a ser epidémicas y requieren del trabajo en conjunto de países para lograr su control y/o erradicación. Como una de ENTRAS se ha clasificado la Influenza aviar altamente patógena IAAP.

De acuerdo al Código Sanitario de los Animales Terrestres, de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), Chile es libre la enfermedad de Newcastle (ENC) en aves de corral desde el año 1975 y de Influenza Aviar de declaración obligatoria (IA) desde el año 2002, fecha en el que se presentó y controló rápidamente el único foco de esta enfermedad registrado en nuestro país. Si bien, la enfermedad se erradicó en tiempo record, los daños producidos a la economía nacional fueron muy altos, llegando a un valor cercano a los US \$32 millones incluyendo el cierre de mercados.

Junto con lo anterior, la carne de ave es la carne más consumida dentro de América Latina, debido a que es considerada una fuente proteica de alta calidad y de bajo costo, con muchos tipos de productos y subproductos. En Chile el consumo per capita de carne de ave en el año 2007 fue de 31.7 kg. con una producción de 580.980 toneladas de carne de aves para el mismo año. Por otra parte, el consumo de huevo se ha visto en aumento y se ha relacionado con el crecimiento demográfico. El huevo es la proteína animal de más bajo costo y es altamente nutritivo. En Chile el consumo de huevos per capita en el año 2007 fue de 175 unidades y la producción fue de 2.600 millones de huevos.

El gráfico N° 1 presenta un resumen del consumo de carne y huevos de aves en los países de América del sur.

Gráfico Nº 1: Consumo per capita de carne de pollo y huevos en países de América del Sur, y sus poblaciones.



Fuente: Asociación Latinoamericana de Avicultura, 2007, FAO.

Los países de América latina con mayor consumo per capita de carne de pollo son Brasil con 37 Kg, Venezuela con 33 Kg y Argentina con 31 Kg. Los países con menor consumo de carne de pollo son, Paraguay 9 Kg, Colombia 19,8 Kg y Ecuador con 24 Kg. En el caso del consumo per capita de huevos, los países que consumen mayor cantidad de unidades de huevos durante el año 2007 son, Uruguay 218 Unid, Colombia 205 Unid, y Argentina 195 Unid. En el caso de los países que consumen menos cantidad de huevos están, Bolivia 109 Unid, Perú 111 Unid y Ecuador 117 Unid. Esta información se enriquece con los datos de la población de cada país.

En el año 2004, el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) en conjunto con la Asociación de Productores Avícolas de Chile A.G. (APA), la Asociación de Productores de Huevos de Chile (ASOHUEVO), la Agrupación de Médicos Veterinarios Especialistas en Avicultura y Patología Aviar (AMEVEA) y la Asociación de Criaderos de Avestruz de Chile (ACAC), iniciaron el proyecto de vigilancia de enfermedades exóticas en aves, en el marco del Fondo de Mejoramiento del Patrimonio Fito y Zoonitario (FONDO-SAG), con el objetivo de reforzar la vigilancia epidemiológica (VE) de las enfermedades de aves de importancia económica, IA y ENC, en todos los estratos de aves del país. El proyecto incorporó, además, la monitorización en Bronquitis Infecciosa Renal (BIR).

Este proyecto tuvo una duración de 4 años, durante los cuales se cumplieron todos los objetivos propuestos al inicio del proyecto, siendo el 2007 el último año de Proyecto. Este informe presenta los resultados pertinentes al año 2007 así como aquellos logrados en los años anteriores.

2.- OBJETIVOS

Los objetivos principales del Proyecto son:

- Mantener un sistema de vigilancia epidemiológica para influenza aviar y enfermedad de Newcastle y contar con un sistema de detección precoz, ante un eventual ingreso del agente al país.
- Establecer un método eficiente de atención de denuncias frente a la sospecha de bronquitis infecciosa renal, para evaluar la situación sanitaria nacional.
- Generar información epidemiológica a la autoridad sanitaria, que respalde la condición de país libre de estas enfermedades exóticas y que permita evaluar el riesgo, en los diferentes estratos de aves en el país.

3.- MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de muestras y pruebas diagnósticas realizadas

Las muestras utilizadas y los diagnósticos realizados para cada enfermedad se describen en el cuadro N° 1.

Cuadro N° 1: Tipo de muestra y métodos de diagnóstico según enfermedad.

Enfermedad	Muestra	Prueba o método de diagnóstico
Influenza Aviar	Sangre (suero) y/o tórula cloacal	Inmunodifusión en agar gel (IDAG) y aislamiento en huevos embrionados SPF, rRT-PCR
Enfermedad de Newcastle	Tórula cloacal	Aislamiento en huevos embrionados SPF, RT-PCR
Bronquitis Infecciosa Renal	Tórula cloacal, órganos	Aislamiento en huevos embrionados SPF e inmunohistoquímica

Para la técnica de aislamiento en huevos embrionados SPF, se realizan pooles (conjuntos) de hasta 5 tómulas cloacales y/o traqueales.

Algunas muestras de IA son realizadas por Reacción en cadena de la polimerasa con transcripción reversa en tiempo real rRT-PCR y para ENC la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción reversa. RT-PCR.

Todas las muestras fueron analizadas en el Subdepartamento de Laboratorio y Estación Cuarentenaria Pecuaria del SAG, ubicado en Lo Aguirre.

Estratos de aves muestreadas

La vigilancia se basa en la programación permanente de los muestreos de forma anual, para los diversos estratos de aves incluidos en el proyecto. En los inicios del proyecto se consideraron siete estratos de aves para la vigilancia, sin embargo, con el desarrollo del proyecto, estos aumentaron a diez; orientando la vigilancia de algunas de las enfermedades a ciertos estratos de

de aves basado en el riesgo de introducción, de algunas de las enfermedades bajo vigilancia, en ciertos estratos de aves. De esta forma se incorporó el estrato de gallos de pelea o de riña específicamente en la I región; mercado de aves vivas, dentro de los criaderos de aves ornamentales, se agregaron planteles de codornices, palomas, centros de rehabilitación y centros de reproducción, y se continuó con la vigilancia en aves de traspatio, orientada estratégicamente a zonas identificadas como de riesgo, debido a la concentración de aves silvestres (migratorias y residentes), la densidad de planteles o establecimientos de aves de corral cercanos a estas zonas. De igual forma se estableció el muestreo en los planteles de industriales de la carne, con una vigilancia dirigida a los sectores cercanos a humedales considerados de riesgo.

Actualmente los estratos de aves definidos para vigilancia son:

1. Planteles Industriales de carne
 - abuelas y reproductoras broilers
 - reproductoras de pavos
 - engorda broiler y engorda pavos
2. Las reproductoras y ponedoras comerciales
3. Los criaderos de ratites (avestruces, emúes y ñandúes)
4. Las aves de crianza familiar o traspatio
5. El mercado de aves vivas
6. Las aves de tiendas de mascotas o pets
7. Los criaderos de aves: ornamentales, codornices, palomas, centros de rehabilitación y de reproducción
8. Las aves de Zoológicos, granjas educativas y centros de exhibición
9. Los gallos de pelea o riña (I Región)
10. Las aves silvestres (residentes y migratorias)

El diseño de muestreo se realizó para aves de corral y silvestres, a nivel nacional, considerando como unidad epidemiológica los planteles o establecimientos de aves de corral y humedales en aves silvestres. El marco de muestreo en aves de corral fue el muestreo aleatorio estratificado en dos etapas. Etapa 1, los sectores (planteles, tiendas mercados, zoológicos etc.) dentro de cada estrato. Etapa 2, en pabellones, jaulas dentro de cada sector. En aves silvestres un muestreo aleatorio estratificado.

Para obtener el tamaño de muestreos se utilizaron los programas Epidat 3.0 y Win Episcopo 2.0. Se trabajó con una prevalencia predial e intrapredial:

Aves de corral: prevalencia predial de entre 1-20%
 prevalencia intrapredial 5-30%

Aves silvestres: No se ha definido un tamaño muestral debido a las dificultades en las capturas de aves.

Para la vigilancia de IA, se extraen muestras de sangre o de tórula cloacal, dependiendo de la especie de ave y el tamaño que esta posea. En el caso de ENC, se utilizaron muestras de tórulas cloacales.

Estratos de aves con muestras de sangre para el diagnóstico de influenza aviar IA:

- Planteles industriales: abuelas y reproductoras broilers, reproductoras de pavos, engorda de broilers y de pavos.
- Reproductoras y ponedoras comerciales
- Ratites

- Avicultura familiar campesina o Traspatio
- Mercado de aves vivas
- Aves de combate o riña (I Región)

Estratos de aves con muestras de tómulas para el diagnóstico de IA y ENC:

Para los estratos de aves de:

- Zoológicos o centros de exhibición de aves o granjas educativas
- Criaderos de aves ornamentales, palomas, codornices, centros de rehabilitación y de reproducción,
- Tiendas de mascotas
- Aves silvestres,

Se realiza la vigilancia por medio de muestras de tómulas cloacales, a partir de las cuales se obtiene el resultado del diagnóstico de IA y ENC.

Estratos de aves con muestras de tómulas para el diagnóstico de ENC:

- Ponedoras comerciales sin vacunación
- Criaderos de ratites
- Avicultura familiar campesina o traspatio
- Mercado de aves vivas
- Aves de combate o riña (I Región)

En el caso de la ENC se mantuvo la vigilancia de las aves no vacunadas, por medio del muestreo con tómulas cloacales. En el caso de las aves vacunadas, la vigilancia se realiza mediante la atención de denuncias ante cuadros compatibles, con la definición de síndrome neurológico respiratorio descrita en el Manual de Procedimientos de Atención de Denuncias del SAG (cuadro N° 2).

Los muestreos de los sectores industriales asociados a APA y ASOHUEVO son realizados por Médicos Veterinarios Acreditados (MVA) coordinados por APA, y los materiales se entregan directamente a las empresas. El muestreo de los estratos de aves que no poseen MVA, es efectuado por los Médicos Veterinarios Oficiales SAG.

Las muestras obtenidas son enviadas al Laboratorio Pecuario SAG, Lo Aguirre, acompañado del "Protocolo de toma de muestras del Proyecto Nacional de Vigilancia Epidemiológica en Aves Fondo SAG-APA". Este protocolo es de uso exclusivo para el proyecto. Las especificaciones de la toma de muestra y el envío de ellas se encuentran en el Anexo N°1.

Actividades complementarias al Proyecto

Conjuntamente con las actividades de VE realizadas por el Proyecto durante el año 2007, se desarrollaron actividades complementarias: se elaboraron materiales de apoyo gráfico para la prevención de ingreso de enfermedades avícola, enfocado a pequeños productores y propietarios de la avicultura familiar campesina.

En el mes de Noviembre, se realizó un taller de capacitación en captura, manipulación, identificación, bioseguridad y toma de muestras en aves silvestres, que contó con la participación de técnicos y profesionales del Servicio, del ámbito Pecuario y de Recursos Naturales. Esta actividad se realizó en la Región de Valparaíso, en la desembocadura del río Maipo, tranque los Molles y laguna Cartagena.

En el mes de Enero del 2008, se llevó a cabo un seminario con motivo del cierre de los cuatro años de actividades. El objetivo del seminario fue presentar la experiencia de Estados Unidos en el control de brotes de Newcastle e influenza aviar en aves silvestres. Esta presentación estuvo a cargo de la Dra. Janice Pedersen, de APHIS y participaron distintos profesionales del sector avícola.

Cuadro Nº 2: Definición de caso de síndrome neurológico respiratorio en aves, Características y acciones a seguir.

Caso	Definición de las características clínicas, epidemiológicas y de laboratorio	Acciones
Compatible con signos y síntomas clínicos de un síndrome	Presencia de aves con signos respiratorios (jadeo, tos, lagrimeo, estornudos, edema de cabeza, barbillas y párpados) y/o neurológicos (depresión, alas caídas, torneo) junto con: Baja de parámetros productivos (postura, eficiencia de conversión alimenticia, nacimientos, consumo de alimento) Morbilidad normal a medianamente alta Mortalidad normal o levemente aumentada.	Comunicación del propietario o médico veterinario asesor al SAG. Atención de evento por personal SAG. Toma y envío de muestras (sangre, órganos, tómulas, aves) Investigación epidemiológica e informe.
Probable	Signos respiratorios agudos (disnea, cianosis de crestas y barbillas, estertores, secreción nasal y oral, edema facial) y/o nerviosos (depresión, parálisis, torneo, torsión de cabeza y cuello, parálisis) junto con: Morbilidad y mortalidad elevadas Hallazgos de necropsia compatibles con un cuadro de alguna enfermedad exótica. Serología positiva a una enfermedad exótica sin datos de vacunación previa.	Toma y envío de muestras (sangre, órganos, tómulas, aves). Investigación epidemiológica e informe. Establecimiento de cuarentena prediagnóstica. Comunicación a Dirección Regional y SAG Central Activación del Sistema de Alerta Temprana Informe de laboratorio preliminar en un máximo de 72 horas para descartar Influenza Aviar y Enfermedad de Newcastle (descartadas estas enfermedades debe levantarse la cuarentena prediagnóstico. Recomendando medidas de Bioseguridad)
Confirmado	Aislamiento viral y/o PCR, y Determinación de subtipos y/o patogenicidad según corresponda al agente causal aislado.	Influenza aviar o de enfermedad de Newcastle de notificación a la OIE: Cuarentena Predial (Res. Dirección Regional respectiva). Aplicación de medidas del Manual de Contingencia (IA-NC). Comité de emergencia público – privado. Comunicación a Autoridad Sanitaria en Salud Pública en caso de IA.

Diagnóstico diferencial: enfermedad de Newcastle, cólera aviar, influenza aviar, laringotraqueítis, viruela aviar (forma diftérica), psitacosis (clamidiosis) (aves psitácidas), micoplasmosis, bronquitis infecciosa, enfermedad de Pacheco del papagayo (aves psitácidas), errores de manejo como falta de agua, aire o alimentación, virus del Nilo Occidental.

La vigilancia de BIR, se basa en la ejecución de denuncias de casos, explícito en el Manual de Procedimientos de Atención de Denuncias. Esta enfermedad es endémica en el país, y se busca conocer la situación actual en Chile.

4.- RESULTADOS AÑO 2007

La vigilancia comenzó en el mes de enero con la toma de muestras de los planteles industriales de carne (abuelas, reproductoras y aves de engorda), seguido por los planteles de reproductoras ponedoras y ponedoras comerciales, ratites, aves de traspatio, gallos de pelea, comercio de aves vivas, criaderos de aves ornamentales, tiendas de mascotas, zoológicos y aves silvestres. En el cuadro N° 3 se expone el total de muestras de aves analizadas por enfermedad durante el año 2007.

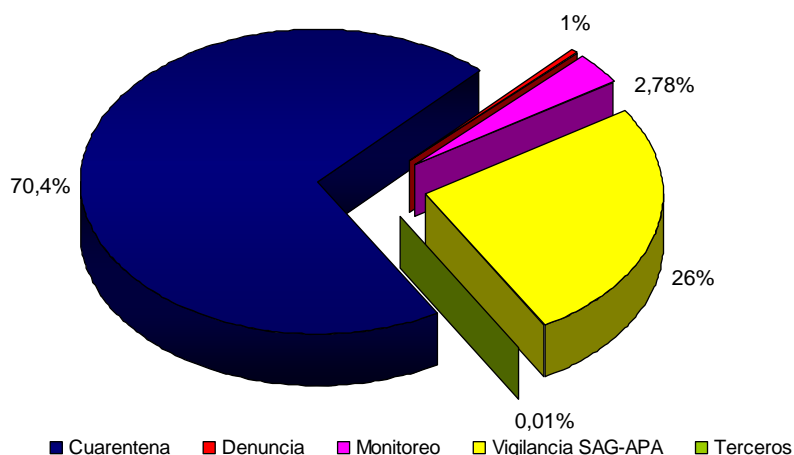
Cuadro N° 3: Número de muestras analizadas por enfermedad durante el año 2007.

Enfermedad	Nº de Muestras
Influenza aviar	87.056
Newcastle	5.293
Bronquitis infecciosa renal	73
Total	92.422

4.1.- Influenza Aviar (IA)

En el año 2007 se analizaron un total de 87.056 muestras de aves. Muestras provenientes del Proyecto de Vigilancia Nacional de Aves y de otros objetivos. Las muestras correspondientes a otros objetivos, se divide en muestras procedentes de: atención de denuncia, certificación para exportación, cuarentena de importación, monitorización de muestras no incluidas en el proyecto y de muestras colectadas por terceros, con fines diagnósticos. El gráfico N° 2 representa el porcentaje de muestras realizadas para IA, según los distintos objetivos y regiones del país.

Gráfico N° 2: Porcentaje de muestras realizadas para IA, según los diferentes objetivos.



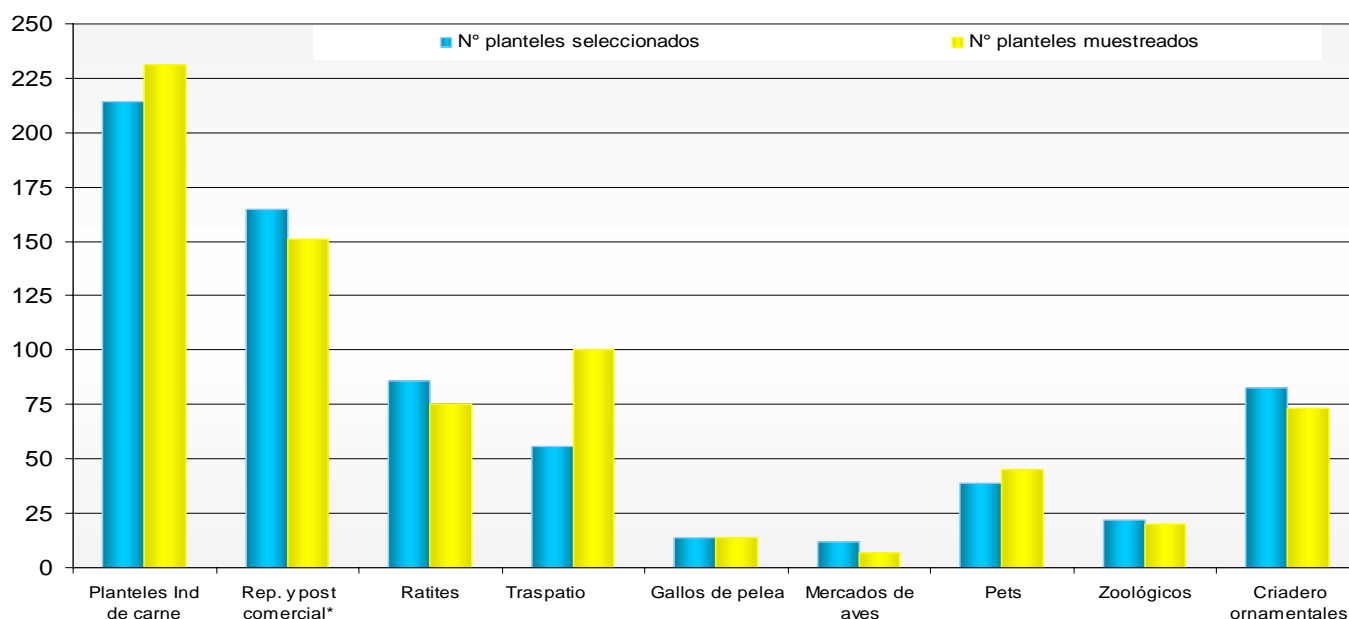
Las muestras realizadas por cuarentenas (exportación y de importación) representan el 70% (61.293) del total de muestras colectadas por IA, la vigilancia realizada por el proyecto representa un 26% (22.472) del total de muestras colectadas, muestras obtenidas por monitoreo 2,7%

(2.828), las muestras por denuncias representan 1% (458) y las muestras obtenidas por terceros (0.01% (5). De este número de muestras, las que representan a vigilancia son las muestras que se realizan estratégicamente en diferentes estratos de aves, con el objetivo de detectar precozmente la infección en las poblaciones de aves.

Las muestras de aves realizadas por el Proyecto de vigilancia (22.472) resultaron negativas en su totalidad, por las técnicas de IDAG e inoculación en huevos embrionados. Las muestras de IA analizadas durante el año 2007, se distribuyen según la existencia .

El gráfico N° 3 compara el número de planteles o sectores de aves seleccionados para vigilancia, y los planteles muestreados durante el año 2007

Gráfico N° 3: Número de planteles de aves programados y muestreados, según los estratos de aves.



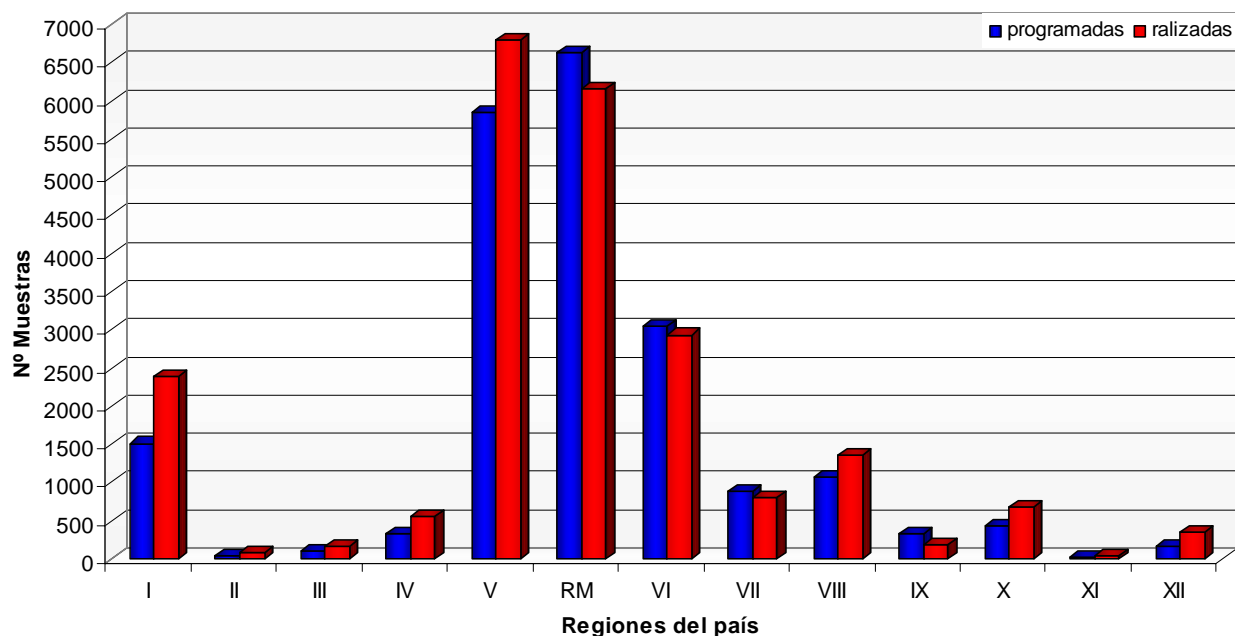
Se observa que el 104% (691/716) del total de planteles seleccionados fueron muestreados. Al analizar los estratos muestreados en forma individual, se observan diferencias entre los planteles programados y los muestreados. El porcentaje de muestreo (plantel programado versus plantel muestreado) en estos estratos es: reproductoras y ponedoras comerciales 92% (165/151), ratites 87% (86/75), mercado de aves vivas 58% (12/7), zoológicos 91% (22/20) y criaderos de aves ornamentales 88% (83/73). La mayor diferencia se aprecia en el estrato de mercado de aves vivas, estrato incluido este año dentro del proyecto.

En el caso de los planteles o sectores Industriales de la carne, aves de traspatio y tiendas de mascotas, se muestrearon un mayor número de planteles, de los programados inicialmente. En el caso de planteles de aves de traspatio, la diferencia es mayor (56/100), debido a que la programación de este estrato es en base a clusters o agrupaciones la cual fue menor, al número de planteles muestreados totales para este estrato, los planteles muestreados corresponden a los

clusters seleccionados. En el estrato de gallos de pelea no hubo diferencias, se muestreo el 100% (14) de los planteles programados.

El gráfico N° 4 representa las muestras programadas y realizadas por región del Proyecto de Vigilancia Nacional de Aves.

Gráfico N° 4: Número de muestras programadas y realizadas para la vigilancia de Influenza Aviar en Chile.



Las muestras colectadas por el Proyecto de vigilancia en aves se obtienen de todo el país, concentrándose principalmente en las regiones V, RM y VI, debido a la mayor existencia de planteles industriales de carne y huevos.

De un total de 20.410 muestras programadas para IA, se examinaron 22.472 en todos los estratos de aves que circunscribe el proyecto. Las muestras se analizaron por dos métodos de diagnóstico para IA. Se analizaron 19.390 muestras por inmunodifusión en agar gel (IDAG) que representa un 95% del total de las muestras analizadas. Un total de 1.020 muestras se analizaron por la técnica de aislamiento en huevos embrionados SPF, que representa 5% del total de muestras analizadas para IA. Estas últimas fueron obtenidas de los estratos de zoológicos, criaderos de aves ornamentales, tiendas de mascotas o pets y aves silvestres.

En prácticamente todas las regiones, excepto cuatro, la diferencia entre las muestras programadas y las realizadas fue positiva. Estas fueron significativamente más altas en la I y V región del país, donde se aprecia un aumento considerable en los estratos de engorda broiler, engorda pavos, reproductoras y ponedoras comerciales, aves de traspatio y aves silvestres. En cuatro regiones (RM, VI, VII y IX), se obtuvo una diferencia negativa, resultado en un menor muestreo en los estratos de reproductoras broiler, engorda broiler, reproductoras y ponedoras

comerciales, mercado de aves vivas, criadero de aves ornamentales, tienda de mascotas y aves de zoológico.

En el cuadro N° 4 se presentan las muestras de IA realizadas por vigilancia, según los estratos de aves que incluye el proyecto y las regiones donde se realiza.

Cuadro N° 4: Número de muestras realizadas para vigilancia de IA según estrato de aves y regiones del país.

Especie	I	II	III	IV	V	RM	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	Total general
Abuelas broilers	-	-	-	-	180		180	-	-	-	-	-	-	360
Rep. broilers	240	-	-	-	1.020	1.650	1.200	-	-	-	-	-	-	4.110
Engorda broilers	1.020	-	-	-	1.860	2.219	960	-	-	-	-	-	-	6.059
Rep. pavos	-	-	-	-	959	-	-	-	-	-	-	-	-	959
Engorda pavo	-	-	-	-	1.680	420	240	-	-	-	-	-	-	2.340
Rep. y postura comercial	580	-	-	150	645	1.413	200	691	810	54	52	-	120	4.715
Ratites	64	-	26	224	33	98	77	13	174	30	129	29	40	937
Traspatio	101	60	106	90	203	96	47	37	255	66	277	-	54	1.392
Gallos de pelea	176	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	176
Mercados de aves vivas	-	-	-	-	-	15	-	-	25	6	10	-	-	56
Criadero de aves ornamentales	10	13	5	40	32	181	10	17	58	4	-	-	5	375
Tiendas de mascotas o pets	26	5	-	20	50	30	15	15	25	2	10	2	5	205
Zoológicos, Granjas educativas y centros de exhibición	5	5	25	20	10	36	-	5	10	1	-	-	15	132
Aves Silvestres	157	3	1	7	131	8	5	19	8	20	193	-	104	656
Total general	2.379	86	163	551	6.803	6.166	2.934	797	1.365	183	671	31	343	22.472

El resumen de las muestras realizadas durante el año 2007, detalla la distribución de las muestras para IA por región.

En los estratos de reproductoras y ponedoras comerciales, planteles de ratites, avicultura familiar campesina o aves de traspatio, criaderos de aves ornamentales, tiendas de mascotas o pets y zoológicos, se encuentran distribuidas a lo largo de todo el país, coincidiendo con la existencia de estos planteles avícolas.

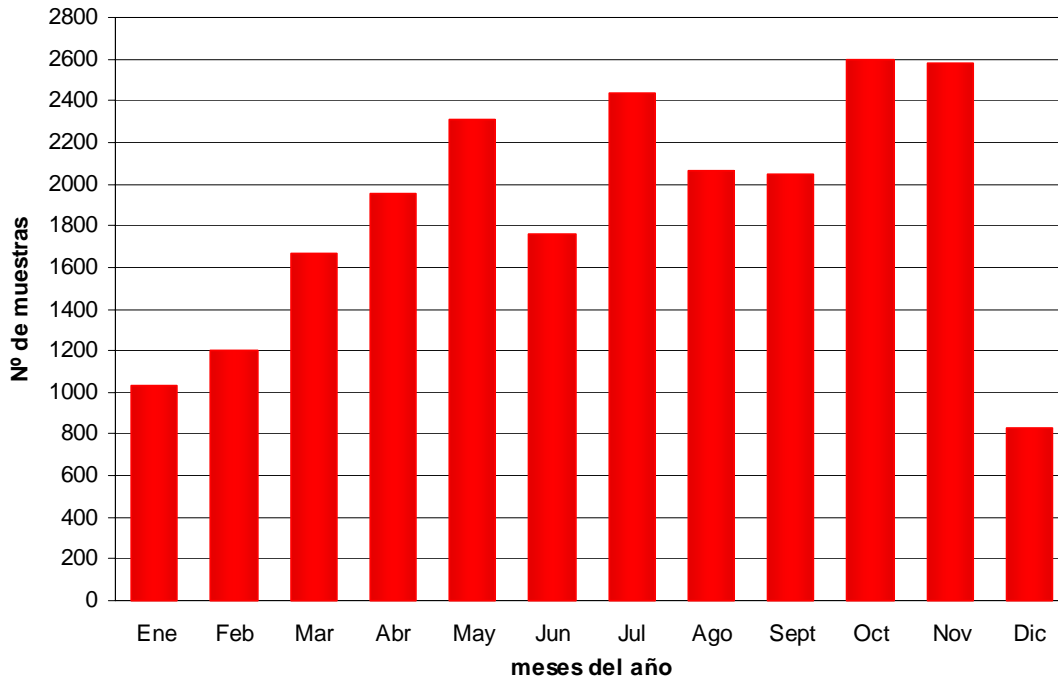
Los estratos de la industria de la carne (abuelas broiler, reproductoras broiler, engorda broiler, reproductoras de pavos, engorda de pavos) concentran el número de muestras en la I, V, RM y VI región, lo que coincide con los datos de existencia de planteles de aves de carne, que se encuentran agrupados en estas 4 regiones. Los estratos de gallos de pelea y mercado de aves vivas presentan una distribución diferente, los planteles de gallos de pelea, se concentran en la I región del país, y en el caso de los mercados de aves vivas, se han concentrado en la RM, VIII, IX y X regiones del país.

En el caso de los muestreos en aves silvestres, se recolectaron de diversas regiones del país. Debe señalarse que, la vigilancia se basa en la programación de capturas que se realizan en dos temporadas al año. El número total de aves silvestres capturadas durante el año 2007, fueron 729 muestras. El detalle de la información en punto N° 4.3.



La distribución temporal de las muestras de IA, se muestran en el gráfico N° 5

Gráfico N° 5: Distribución temporal del número de muestras de vigilancia en IA.



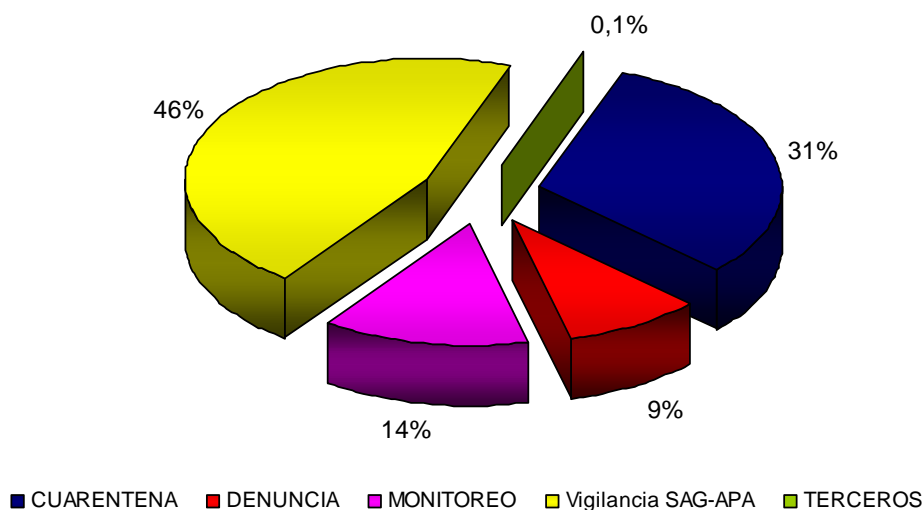
La programación del muestreo en los diversos estratos, se realiza con el objetivo de distribuir homogéneamente la vigilancia anual. En el año 2007, la vigilancia de IA se mantuvo uniforme en el tiempo, exceptuando los meses de enero y febrero, periodo de inicio en el cual se observa un aumento progresivo del número de muestras, presentando un pick en el mes de mayo con 2.308 muestras, que representan el 10% del total de muestras. Posteriormente se observa una declinación en el mes de junio, para aumentar nuevamente en el mes de julio, con un pick de 2.438 muestras, que representa el 11% del total de muestras. Entre los meses de octubre y noviembre, se observa una nueva alza en la recolección de muestras, que representa el 12% y 11% respectivamente. Finalmente en el mes de diciembre declina el muestreo en un 4% (832), debido a la finalización del proyecto la primera quincena de ese mes.

4.2.- Enfermedad de Newcastle (ENC)

El total de muestras analizadas durante el año 2007 para la ENC fue de 5.293 muestras. Estas muestras provienen del Proyecto de vigilancia nacional de aves y por otros objetivos, este último integra a las muestras realizadas por certificación y cuarentena, denuncias, monitorización y de terceros. El resumen del porcentaje de muestras se presenta en el gráfico N° 6.

El número de muestras realizadas por el Proyecto de Vigilancia Nacional de Aves SAG-APA fue de un total de 2.409 muestras, estas se distribuyen en todas las regiones y en diferente intensidad a la distribución que poseen estas muestras para IA, esto debido al tipo de muestras y a la vigilancia enfocada a planteles de aves que no vacunan contra esta enfermedad. Todas las muestras fueron analizadas por la técnica de diagnóstico de aislamiento en huevos embrionados SPF. Las muestras ingresadas por otros objetivos fueron analizadas por las técnicas de Inhibición de la hemoaglutinación IHA, inoculación en huevos embrionados y RT-PCR.

Gráfico N° 6: Porcentaje de muestras realizadas para IA, según los diferentes objetivos.



Del total de las muestras analizadas, el 46% (2.409) representa las muestras realizadas por el Proyecto Nacional de Vigilancia en aves y un 54% (2.884) es obtenido por otros objetivos, del 54%, el 31% (1.660) corresponde a muestras obtenidas por cuarentenas y certificaciones, el 14% (736) de las muestras provenientes de la monitorización, 9% (483) a denuncia y 0,1% (5) a muestras de terceros.

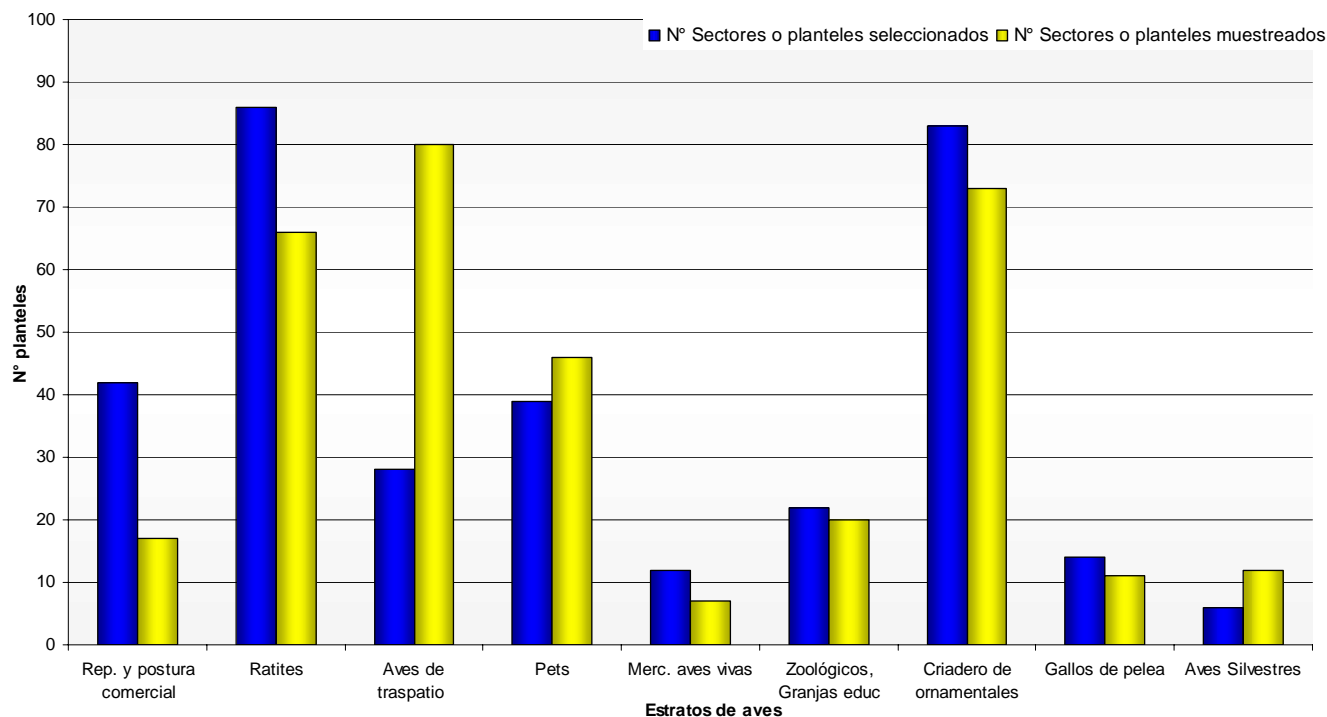
De las 2.409 muestras analizadas por el proyecto nacional de vigilancia en aves para la ENC, 2.391 fueron negativas y 18 muestras resultaron positivas a la técnica de aislamiento en huevos embrionados. Las muestras positivas corresponden a 4 orígenes, uno de ponedoras comerciales, dos criaderos de aves ornamentales y uno de traspatio, ubicados en las regiones V, RM y X, respectivamente. Se realizó una investigación epidemiológica complementaria en cada uno de estos planteles, concluyendo que, en el caso del plantel de ponedoras comerciales, las aves no presentaron ningún signo clínico de enfermedad, además, los antecedentes indicaron que el

plantel presentaba un programa de vacunación. En el laboratorio del SAG se realizó la prueba del índice de patogenicidad IPIC, y se obtuvo como resultado una cepa lentogénica.

En el caso de las aves de traspatio y ornamentales, se realizó una nueva visita con un remuestreo de las aves, y a la inspección clínica no se observaron signos clínicos, ni mortalidades dentro del período. En el laboratorio del SAG se realizó la prueba del IPIC, que dio como resultado cepas lentogénicas del virus NC que no revisten mayor peligro. El diagnóstico molecular caracterizó a estos virus como cepas no patógenas o baja virulencia agrupándose en el grupo de los virus lentogénicos (Anexo N° 3). El análisis filogenético reveló que estos aislamientos Chilenos forman un subgrupo relacionado con virus ancestrales del genotipo II. (Anexo N° 4) y constituyen un grupo relacionado cercanamente a la cepa La Sota con un 97% de similitud. Esto sugiere que estas aves son reservorio de virus lentogénicos.

El gráfico N° 7 muestra los planteles de aves programados y realizados para la ENC, según los estratos de aves.

Gráfico N° 7: Número de planteles o sectores de aves seleccionados y muestreados para ENC según estrato de aves.

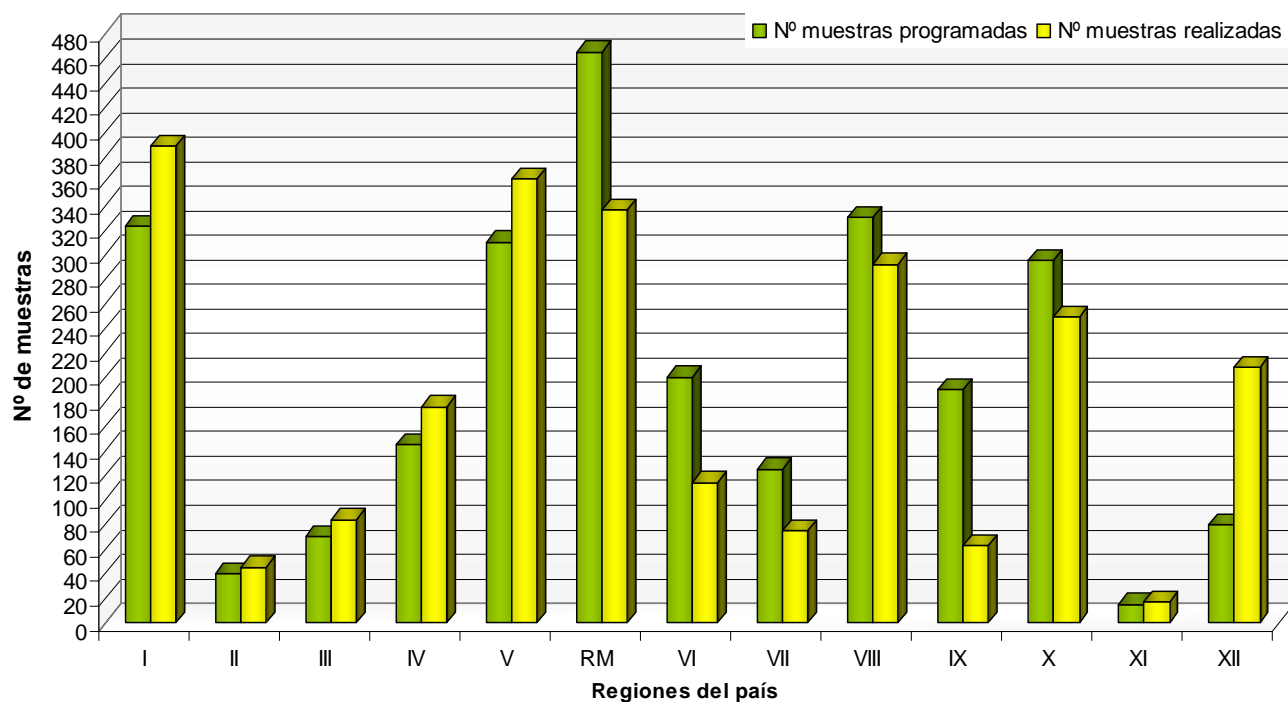


Se programó un total de 332 planteles o sectores de aves para vigilancia de ENC. Este valor está sobre estimado debido a la falta de información de algunos planteles respecto a su condición y esquemas de vacunación. Los planteles muestreados durante el año 2007 fueron 332, esto representa el 100% de los planteles seleccionados. En la gráfica se observa las diferencias entre los estratos programados versus los realizados, en el caso de los planteles de Reproductoras y postura comercial, se muestreó un 40% (17/42), esta diferencia se debe principalmente a la sobre estimación de los planteles que no vacunan contra ENC. En el estrato de Ratites se muestreó un 77% (66/86) de los planteles, en aves de traspatio se muestrearon 286% (80/28) de los planteles.

programados, este valor es superior, debido a que la programación se basa en agrupaciones o clusters de aves de traspatio y este porcentaje refleja un incremento, debido a que la mayoría de los cluster fueron desagrupados y enviados en forma individual. Tiendas de mascotas o Pets se muestrearon más planteles de este estrato de los programados 118% (46/39), Mercado de aves vivas 58% (7/12) de los planteles se muestreo contra ENC, el 91% (20/22) de los planteles de Zoológicos, granjas educativas y centros de rehabilitación fueron muestreados, el 88% (73/83) de los Criaderos de aves ornamentales fueron muestreados, 79% (11/14) de los criaderos de gallos de pelea fueron muestreados y finalmente en aves silvestres el 200% (6/12) de los sitios programados fueron muestreados, abarcando una mayor área del territorio nacional (mayor detalle en el punto N° 4.3.).

El gráfico N° 8 representa las muestras programadas y realizadas por región de la ENC del Proyecto de Vigilancia Nacional de Aves.

Gráfico N° 8: Número de muestras programadas y realizadas para la vigilancia de Enfermedad de Newcastle en Chile.



Las muestras para la vigilancia de ENC se realizan según la existencia de planteles de aves que no vacunan contra esta enfermedad. En los planteles de aves que vacunan contra la ENC, la vigilancia es realizada mediante la atención de denuncia de algún evento epidemiológico compatible con la sintomatología de la enfermedad, en aves de corral ó con la definición de síndrome respiratorio y/o neurológico (Cuadro N° 2). Acciones que se encuentran en el Manual de Procedimientos de atención de denuncias de eventos sanitarios animales¹ de N° 1. VIGEP/MP1.

¹ http://www2.sag.gob.cl/web_intranet/PECUARIA/vigilancia/atencion_denuncias/manual_procedimientos_denuncias.pdf

De un total de 2.588 muestras programadas por el Proyecto Nacional de Vigilancia para ENC, se examinaron 2.409 (93%) de los planteles que no vacunan contra la enfermedad. Las muestras se colectaron por tómulas cloacales, con la técnica de diagnóstico de aislamiento en huevos embrionados SPF. La distribución de las muestras se efectuó en todo el país, según la existencia de los planteles avícolas. La programación de muestras se concentra en las regiones I, V, RM, VII y X región, regiones con mayor concentración de planteles avícolas.

En el 54% (7) de las regiones (I, II, III, IV, V, XI y XII), las muestras analizadas sobrepasaron en más del 100%, a las muestras programadas. Este aumento se explica por un mayor número de muestras realizadas en los estratos de aves silvestres y traspatios principalmente. El 77% (10) de las regiones realizó más del 70% de las muestras programadas. En 6 regiones (RM, VI, VII, VIII, IX, y X), se obtuvo una diferencia negativa, resultando en un menor muestreo en los estratos de reproductoras y ponedoras comerciales, ratites y mercado de aves vivas principalmente. La principal diferencia observada entre los planteles o sectores programados y los muestreados, es en los planteles de reproductoras y ponedoras comerciales, donde se sobrestimo la población de planteles que no vacunan contra ENC. También se observa una diferencia en las muestras de ratites programadas respecto a las realizadas, debido a la disminución de la existencia de criaderos y en el número de ejemplares por plantel.

El cuadro Nº 5 presenta el detalle del número de muestras realizadas por región y estrato, para la vigilancia epidemiológica (VE) de ENC.

Cuadro Nº 5: Número de muestras para vigilancia de ENC según estrato de aves y regiones del país.

Estratos de aves	I	II	III	IV	V	RM	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	Total
Abuelas Broiler	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Reproductoras Broiler	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Engorda Broiler	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Reproductoras Pavos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Engorda Pavos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Reprd y Poned Comer	20	-	-	-	48	-	35	-	-	14	1	-	30	148
Ratites	25	-	10	62	14	46	27	8	66	10	44	15	24	351
Traspatio	67	20	42	40	77	50	22	11	110	21	89	-	25	574
Tienda de mascotas o Pets	26	5	-	20	50	25	15	15	25	2	10	2	5	200
Mercado de aves vivas	-	-	-	-	-	10	-	-	15	1	5	-	-	31
Zoológicos y Granjas educativas	5	5	25	10	10	21	-	5	10	1	-	-	15	107
Criaderos de aves ornamentales	10	13	5	40	32	176	10	17	58	4	-	-	5	370
Aves de Riña	78	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	78
Aves silvestres	157	2	2	4	131	8	5	19	8	10	100	-	104	550
Total	388	45	84	176	362	336	114	75	292	63	249	17	208	2.409

Dentro del número de muestras analizadas para ENC, se observa un mayor número de muestras en las aves de traspatio, las cuales se encuentran presentes en casi todo el territorio nacional, y en su gran mayoría, no vacunan contra esta enfermedad. Dentro de los estratos de aves, le siguen los de aves silvestres, criaderos de diversas especies de aves ornamentales, ratites,

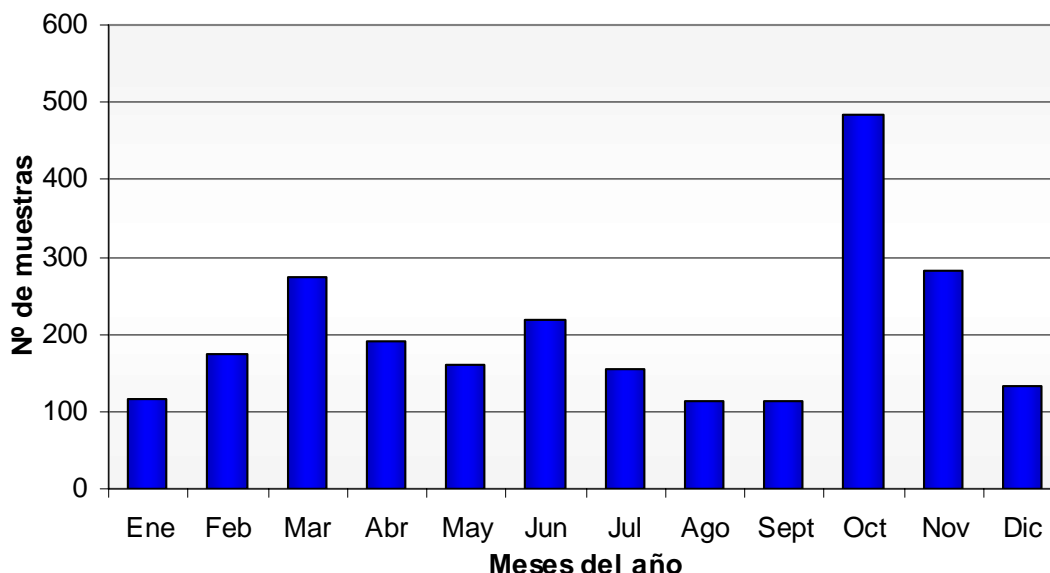
tiendas de mascotas o pets, reproductoras y ponedoras comerciales, zoológicos, aves de riña y mercado de aves vivas.

Las muestras de ENC no se concentran solo entre la V y la VI región, como en la vigilancia que se realiza para IA, debido a que la mayoría de los planteles industriales de estas zonas, mantienen vacunaciones periódicas contra esta enfermedad. Esto se puede verificar en los planteles industriales de la carne en las que no se incluye ningún plantel debido a lo mencionado anteriormente.

En el caso de los planteles industriales de huevos, se observa un menor número de muestras en relación con los otros estratos de aves, debido que la mayoría mantiene un esquema de vacunación para esta enfermedad.

En el gráfico N° 9 se observa la distribución temporal del total de muestras para ENC.

Gráfico N° 9: Número de muestras de vigilancia en ENC distribuidas mensualmente.



Como se observa en la gráfica, las muestras se distribuyen en todo el año 2007, desde enero hasta diciembre. En los meses de marzo (274), junio (218), octubre (485) y noviembre (281) se observan aumentos en la vigilancia efectuada en ENC. Este aumento corresponde principalmente a una concentración de muestras esencialmente en los estratos de aves silvestres, ratites, aves de traspatio, y criaderos de aves ornamentales respectivamente.

4.3.- Vigilancia en Aves Silvestres

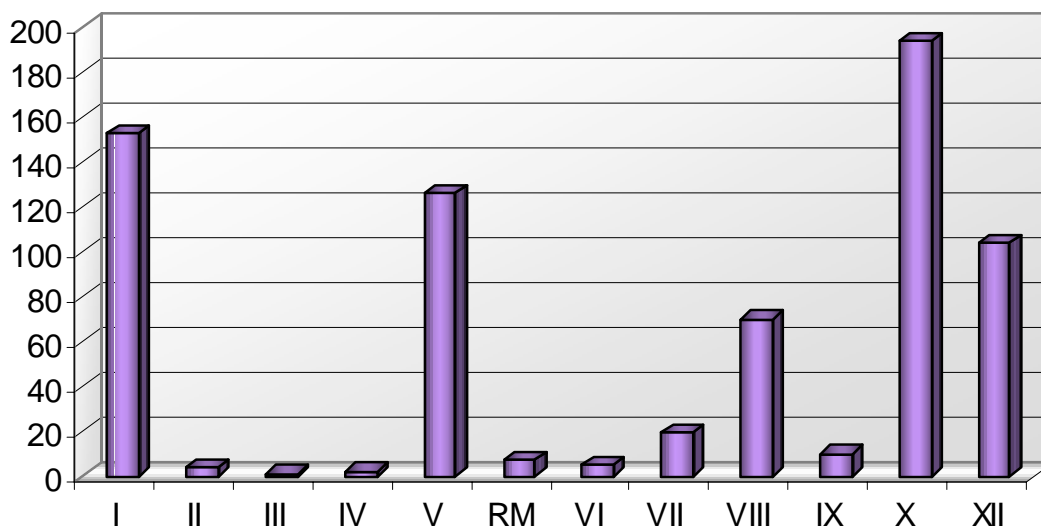
La vigilancia en aves silvestres se realiza por medio de vigilancia dirigida y denuncias, en el país. Se realizaron capturas y toma de muestras en diferentes regiones del país gráfico N° 10

En vigilancia, las capturas se programan según las migraciones que realizan las aves que provienen de otros países o hemisferios. La temporada de migraciones, en el caso de nuestro país, es desde octubre a marzo. Al abarcar dos años, el proyecto divide la temporada en dos etapas. La primera, desde el mes de enero hasta marzo y la segunda etapa comprende desde el mes de octubre hasta diciembre.

La vigilancia en aves silvestres se realizó en conjunto entre la Asociación de Productores Avícolas de Chile, División de Protección Pecuaria y la División de Protección de los Recursos Naturales Renovables, DIPROREN del SAG, quienes trabajaron en conjunto para identificar sitios de riesgo, según concentración de aves migratorias, alta densidad de aves silvestres y cercanía a planteles avícolas (Anexo N° 2).

Existen diversos métodos de capturas descritos en la literatura, en el año 2007 se utilizaron capturas por red cañón, redes niebla, jaulas y en algunos casos, las aves se obtuvieron por razones ambientales, como en la VIII región, donde en el mes de junio, julio y agosto se produjo un derrame de petróleo en el humedal de Lengua.

Gráfico N° 10: Distribución del número de aves silvestres muestreadas en vigilancia.



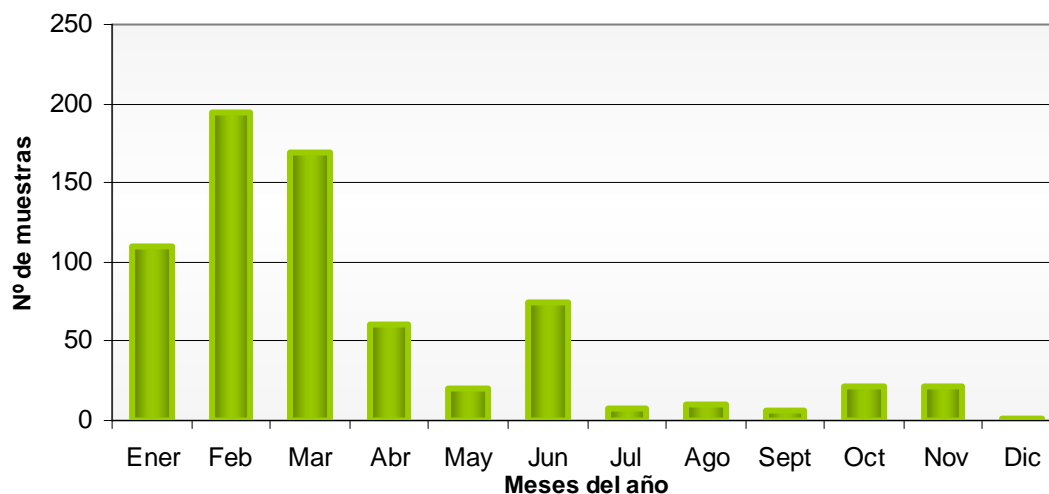
Se muestrearon un total de 729 aves silvestres para vigilancia, de las cuales todas resultaron negativas para IA y ENC. Las muestras se distribuyeron en todas las regiones del país. Las aves muestreadas se concentraron en 5 regiones, con un porcentaje de un 28% (194) en la X región, 22% (153) en la I región, 18% (126) en la V región, 15% (104) en la XII región y 10% (70) en la VIII región. En el resto de las regiones se muestreo un número menor de aves. Dentro de la vigilancia en sitios de riesgo, la V región corresponde a una de nuestras regiones con mayor existencia en planteles de aves de corral de tipo industrial, de igual forma la X región corresponde a una de las regiones con mayor concentración en aves de corral de tipo traspatio.

De los 32 sitios establecidos de concentración de aves silvestres (migratorias), el año 2007 se visitaron y realizó la capturas y toma de muestras en 13 sitios, de 11 regiones del país. En estos

13 sitios se muestreo el 80,5% (587) del total de muestras obtenidas en aves silvestres. De esta forma, se abarco la gran mayoría de las regiones del país dentro de la vigilancia de aves silvestres. Una vez realizada la captura y tomadas las muestras, estas últimas se envían al laboratorio del SAG para su análisis.

En el gráfico N° 11 se observa la distribución temporal de las aves silvestres muestreadas para vigilancia.

Gráfico N° 11: Distribución temporal del número de aves silvestres muestreadas en vigilancia.



En la primera temporada del año 2007 se realizaron capturas en las regiones I, V, IX, X y XII. En el caso de la segunda temporada, se realizaron muestreos en la II, III, V y VII regiones. Durante el año, periodo entre abril a septiembre, también se realizaron muestreos en aves silvestres, en las regiones II, IV, V, RM, VI y VIII. En este último periodo se realizaron capturas en la RM y V región, trabajando con jaulas para captura de aves acuáticas.

Se observa un mayor número de muestras dentro de la época de migración de aves, momento en el cual, se programan las capturas. Entre los meses de enero y marzo se muestreó el 68% de las muestras para vigilancia en aves silvestres. Entre abril y septiembre se muestreó el 26% de las muestras de aves y en el período entre octubre y noviembre se muestreó un 6% de las muestras obtenidas por vigilancia en aves silvestres.

El mes de enero se inició con capturas realizadas en la IX (10) y XII (110) región. En el mes de febrero se observa un alza de muestreos (194) correspondientes a capturas realizadas en la X región. En el mes de marzo se realizaron capturas en la I (153) y V (16) región. En los meses de abril, continuaron los muestreos en la V (60) región. En mayo se tomaron muestras en las regiones V (14), RM (5) y VII (1). Un aumento en el número de muestras se observa en el mes de junio, donde se efectuaron muestreos en las regiones V (15), RM (1), VI (5) y VIII (53). En el caso de la VIII región las muestras recolectadas fueron en aves acuáticas principalmente, debido al derrame de petróleo que sufrió la Bahía de San Vicente, Lenga.

En el cuadro N° 6 se señalan las especies de aves y el número de ejemplares muestreados durante año.

Cuadro Nº 6: Número y especies de aves capturadas y muestreadas para la vigilancia de IA y ENC en Chile durante el año 2007.

Especies de Aves Silvestres	Total
Cormorán guanay (<i>Phalacrocorax bougainvilli</i>)	1
Fardela blanca (<i>Puffinus creatopus</i>)	94
Flamenco de James's o parina chica (<i>Phoenicoparrus jamesi</i>)	5
Gaviota de Franklin (<i>Larus pipixican</i>)	142
Gaviotín boreal (<i>Sterna hirundo</i>)	6
Gaviotín elegante (<i>Sterna elegans</i>)	6
Gaviotín sudamericano (<i>Sterna hirundinacea</i>)	1
Petrel gigante subantártico (<i>Macronectes halli</i>)	1
Pitotoy chico (<i>Tringa flavipes</i>)	1
Playero ártico (<i>Calidris canutus</i>)	23
Playero blanco (<i>Calidris alba</i>)	57
Playero de bairdii (<i>Calidris bairdii</i>)	2
Playero de lomo blanco (<i>Calidris fuscicollis</i>)	54
Pollito de mar rojizo (<i>Steganopus tricolor</i>)	1
Rayador (<i>Rynchops niger</i>)	1
Zarapito (<i>Numenius phaeopus</i>)	9
Zarapito pico recto (<i>Limosa haemastica</i>)	95
Aves silvestres residentes (48 especies)	294
Total general	729

De las 729 aves silvestres capturadas, 40% corresponden a más de 48 especies de aves residentes comunes en nuestro país, y un 60% representan las especies de aves migratorias.

Fotos de capturas y tomas de muestras en aves silvestres realizadas por vigilancia.



Captura de aves con red cañón, en la X región
Foto: Mark Peck



Captura de *Calidris canutus*, en la X región.
Foto: Julissa Jeria



Captura de un *Haematopus palliatus* en una red niebla, en la VII región. Foto: Julissa Jeria



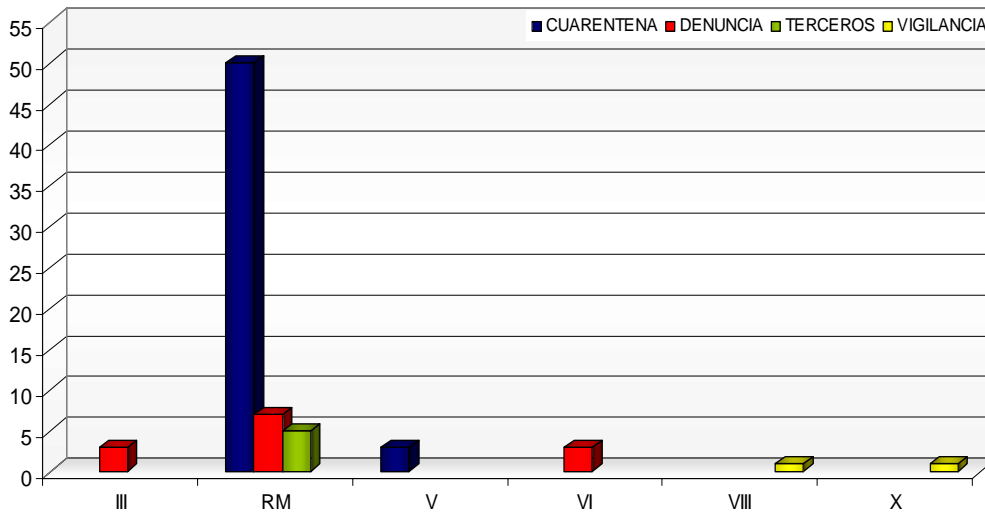
Captura por jaulas en la V región. Foto: Julissa Jeria

4.4.- Bronquitis Infecciosa (BI)

En el marco del Proyecto nacional de vigilancia en aves, la vigilancia para BI renal, se realizó mediante atención de denuncias. A continuación se describe la vigilancia en BI durante el año 2007.

De un total de 73 muestras analizadas para BI, 41 resultaron negativas y 32 tuvieron como resultado positivo a los análisis de laboratorio. Estas muestras provienen de distintos orígenes según el objetivo (atención de denuncia, certificación y cuarentena, y vigilancia). La distribución del objetivo de las muestras se presenta en el gráfico N° 12

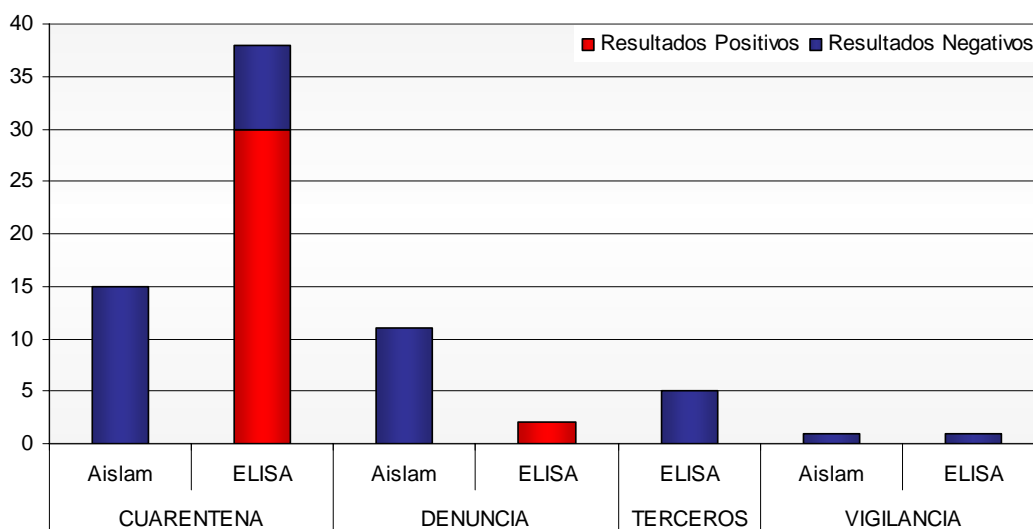
Gráfico N° 12: Número de muestras de BI según objetivos y regiones de Chile.



El mayor número de muestras se realizó entre la Región Metropolitana, de las 73 muestras analizadas, el 73% corresponde a cuarentena, el 18% atención de denuncias, 7% a terceros y 3% a vigilancia. En el caso de las denuncias, se registraron 12 atenciones de denuncia con un total de 13 muestras, las cuales se registraron en la III (3), RM (7) y VI (3) región. Los diagnósticos de terceros fueron un total de 5 muestras, provenientes de la RM. La vigilancia se realizó en la VIII y X región con un total de 2 muestras.

En el gráfico N° 13 se observa el número de muestras positivas y negativas según técnica de diagnóstico. El diagnóstico de BI se efectuó por la técnica de aislamiento, Ensayo inmuno absorbente ligado a enzimas (ELISA) y Reacción en cadena de la polimerasa PCR.

Gráfico N° 13: Número de muestras positivas y negativas de BI según diagnóstico y objetivos.



De las muestras provenientes de cuarentena, 23 muestras fueron negativas, 15 de ellas se analizaron por la técnica de Aislamiento en huevos embrionados (AHE) y 8 muestras fueron analizadas por ELISA. 30 muestras resultaron positivas por la técnica de ELISA, pudiendo inferir que las muestras con origen de cuarentena de importación provienen de aves vacunadas contra esta enfermedad.

Del total de 13 muestras analizadas por atención de denuncia, 11 fueron negativas, por AHE y 2 fueron positivas por la técnica de ELISA. Las 2 muestras positivas corresponden a 2 orígenes de aves de traspatios de la Región Metropolitana.

Las muestras analizadas para terceros fueron 5, estas resultaron negativas ante el diagnóstico de ELISA. Las muestras provenientes de vigilancia fueron 2, las cuales fueron negativas al diagnóstico de AHE y ELISA, estas muestras corresponden a 2 planteles o establecimientos provenientes de la X y VIII respectivamente.

5.- CONCLUSIONES

La vigilancia de IA y ENC ha sido realizada de acuerdo a lo establecido en la programación del año del proyecto, en todos los estratos de aves definidos. De esta manera, se ha cumplido con los objetivos planteados durante el año 2007.

Todas las muestras obtenidas por vigilancia activa o dirigida, para IA han sido negativas, permitiendo asegurar la mantención de la condición de país libre de esta enfermedad.

Los resultados de las muestras positivas a ENC, nos indican que la vigilancia epidemiológica esta funcionando respecto a lo esperado, detectándose en forma precoz y realizando el estudio epidemiológico pertinente, obteniendo como resultados en estas muestras, cepas lentogénicas, que no revisten mayor peligro.

El aumento en el número de estratos de aves, la vigilancia en las de zonas de riesgo de introducción de virus exóticos, la definición de síndrome neurológico respiratorio, el muestreo dirigido a gallos de pelea y a la venta de aves vivas, han permitido focalizar mejor las acciones de vigilancia epidemiológica mejorando la sensibilidad del sistema.

Las actividades realizadas por el proyecto, en seminarios, capacitaciones y materiales de apoyo, refuerzan las acciones de prevención de ingreso de enfermedades a los planteles.

El buen desarrollo del proyecto mediante el trabajo coordinado entre el sector público y privado SAG-APA, durante estos 4 años de proyecto, han impulsado al desarrollo de un nuevo proyecto publico-privado para el año 2008, con el objetivo de mantener una vigilancia activa y proteger la avicultura nacional frente a la amenaza de las diferentes enfermedades exóticas aviares con importancia socioeconómica a nivel mundial.

6.- ANEXOS

Anexo N° 1: Obtención y Manipulación de las Muestras Obtenidas de Aves

Las muestras colectadas deben enviarse en un plazo máximo de 24 a 48 horas al laboratorio. **NO** se acepta el envío de muestras los días jueves o viernes debido al riesgo de ingreso al laboratorio al lunes, disminuyendo la posibilidad de obtener resultados positivos por mala conservación de la muestra.

1.- Muestras de sangre: Las muestras de sangre, obtenidas en forma estéril por la vía que más acomode de acuerdo al tipo de ave y de acuerdo a lo explicado anteriormente, deberá ser en cantidad mínima de 0,5 ml. El tubo deberá quedar inclinado en ángulo de 45° por media hora, para facilitar el desuerado. Se debe rotular el tubo con un número correlativo y poner el tipo de ave que se sangró. Posteriormente la muestra podrá ser refrigerada dentro de una caja isotérmica.

Nota: En caso de extracción con jeringa, la sangre debe ser vaciada inmediatamente después de obtenida a un tubo estéril, teniendo la precaución de retirar la aguja de la jeringa previamente.

2.- Muestras de tómulas: Las muestras para cultivos virológicos obtenidas a partir de tómulas (cloacales y/o traqueales, dependiendo del tipo de ave), deberán ser humedecidas primero con el medio de transporte (3 ml) contenido en el tubo de vidrio. Este medio contiene caldo cerebro corazón. Se debe tener la precaución de observar el medio para asegurar que no está contaminado (turbidez) debido a que no posee antibióticos.

Para la obtención de una buena muestra, la tómula debe rotarse sobre su eje en los dos sentidos dentro de la cloaca o traquea, luego deberá sumergirse en el medio y agitarse vigorosamente. Posteriormente se deberá retirar la tómula del tubo y deberá eliminarse en su contenedor a una bolsa de basura. Se puede usar un tubo para 5 tómulas como máximo. El tubo deberá ser correctamente rotulado con un número correlativo, tipo de tómula (cloacal o traqueal) y tipo de ave muestreada. Finalmente el tubo con el medio deberá ser refrigerado inmediatamente. La acción de eliminar la tómula en el lugar de muestreo es para evitar posibles contaminaciones intralaboratoriales.

3.- Muestras de órganos: Para tomar muestras de órganos de aves muertas, estas deben haber muerto recientemente o si ambientalmente hace frío pueden tener 24 horas de muertas. Se procederá a realizar una necropsia dirigida a la obtención de órganos como tráquea, pulmón, bazo u otro órgano de acuerdo a los hallazgos de necropsia, los cuales serán incluidos dentro de bolsas plásticas estériles y conservados en refrigeración o congelados. La cantidad mínima de órgano no deberá ser menos de 1 gramo y máximo no más de 5 gramos. No se deben mezclar órganos de distintas aves en una misma bolsa. Se puede agregar el mismo medio cerebro corazón de los tubos para las tómulas a la bolsa, con el fin de proporcionar humedad y proteínas al virus. Las muestras se deberán mantener refrigeradas y deberán ser enviadas al laboratorio lo antes posible.

NO se congela la muestra a no ser que tengan un congelador a -70° o disponer de hielo seco (los normales son -20° lo que es fatal para el virus).

En el caso de muertes reciente se deberá enviar la cabeza de las aves en una bolsa aparte y refrigerada o bien congelada en los términos descritos en el párrafo anterior (**no congelar a -20° C**), esta muestra es exclusivamente para vigilancia de West Nile virus.

Anexo N° 2: Sitios de Concentración de Aves Silvestres.

N°	Región	Provincia	Nombre
1	I	Tarapacá	Desembocadura Río Lluta
2			Quebrada Vitor
3			Quebrada Camarones
4	II	Antofagasta	Bahía de Mejillones
5	III	Atacama	Desembocadura Río Huasco
6			Tranque Hacienda María Isabel
7	IV	Coquimbo	Laguna Teatinos
8			Estero El Culebrón
9	V	Valparaíso	Bahía La Ligua
10			Punta Con Con
11			Desembocadura Río Maipo
12			Humedal El Yalí
13	RM	RM	Humedal Batuco
14	VI	O'Higgins	Laguna Topocalma
15	VII	Maule	Laguna Reloca
16			Humedal de Putú
17	VIII	Bío-Bío	Humedal Los Batros
18			Humedal Tubul Raqui
19			Humedal Lenga
20			Reserva Isla Mocha
21			Laguna La Posada
22	IX	Araucanía	Lago Budi
23	X	Los Lagos	Río Cruces
24			Bahía de Putemún
25			Bahía de Aucar
26			Desembocadura Río Maullín
27			Bahía de Chullec
28			Laguna de Quinched
29	XI	Aysén	Laguna Bahía Jara
30			Laguna Coyhaique Alto
31	XII	Magallanes	Bahía Lomas
32			Estancia Lagunitas

Anexo Nº 3: Análisis filogenético de las cepas de ENC aislados de dos planteles de aves ornamentales y de un plantel de aves de traspatio.

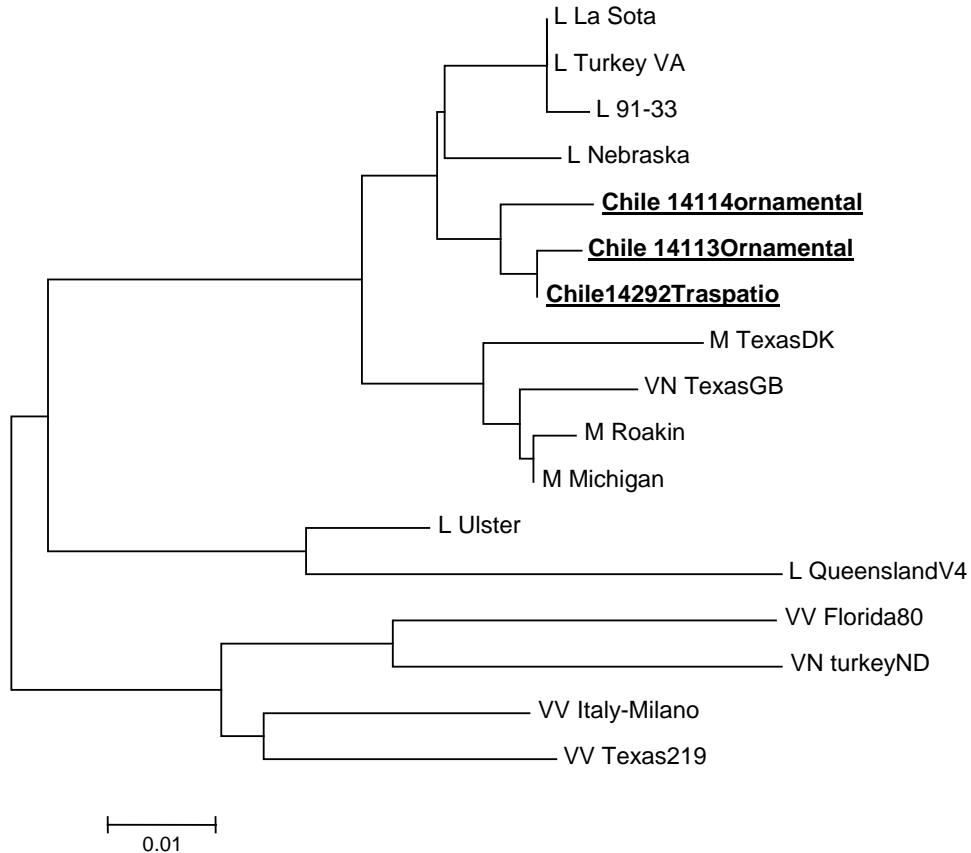


FIGURA I. Análisis filogenético de la secuencia de nucleótidos de los productos amplificados de la proteína de fusión del VNC generado por el programa MEGA. Abreviaturas: L, lentogénico; M, mesogénico; VN, velogénico neurotrópico y VV, velogénico viscerotrópico.

Anexo Nº 4: Análisis filogenético de las cepas de ENC, con un 97% de similitud a la cepa La Sota.

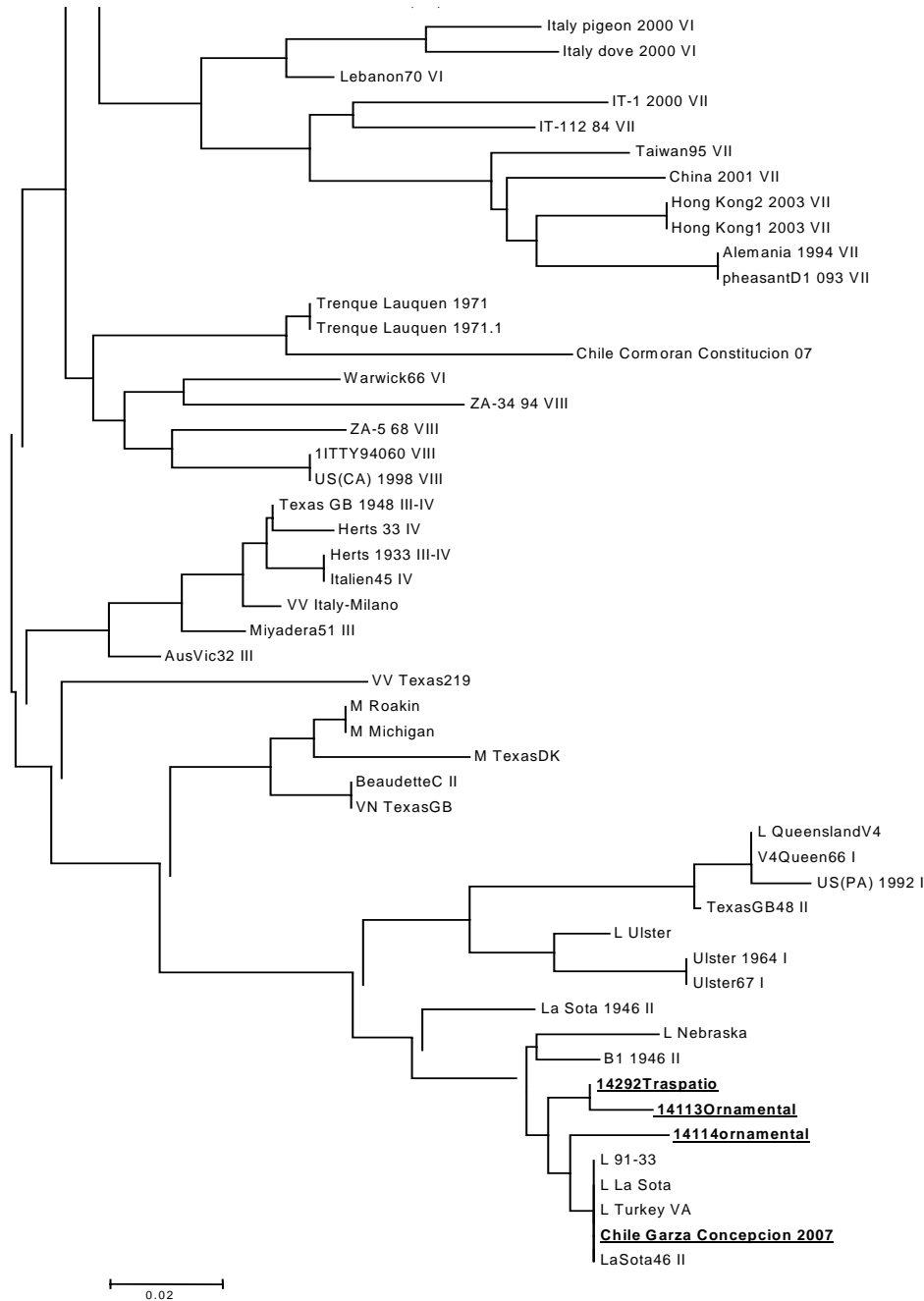


Fig II. Relaciones filogenéticas entre los aislados de VNC donde se representan los genotipos individuales en número romano (I al VIII) y de los aislados de cormoranes (Ct) de Canada, Norteamérica, basado en la secuencia de nucleótidos de 253 pares de bases que incluye el sitio de clivaje de la proteína de fusión.