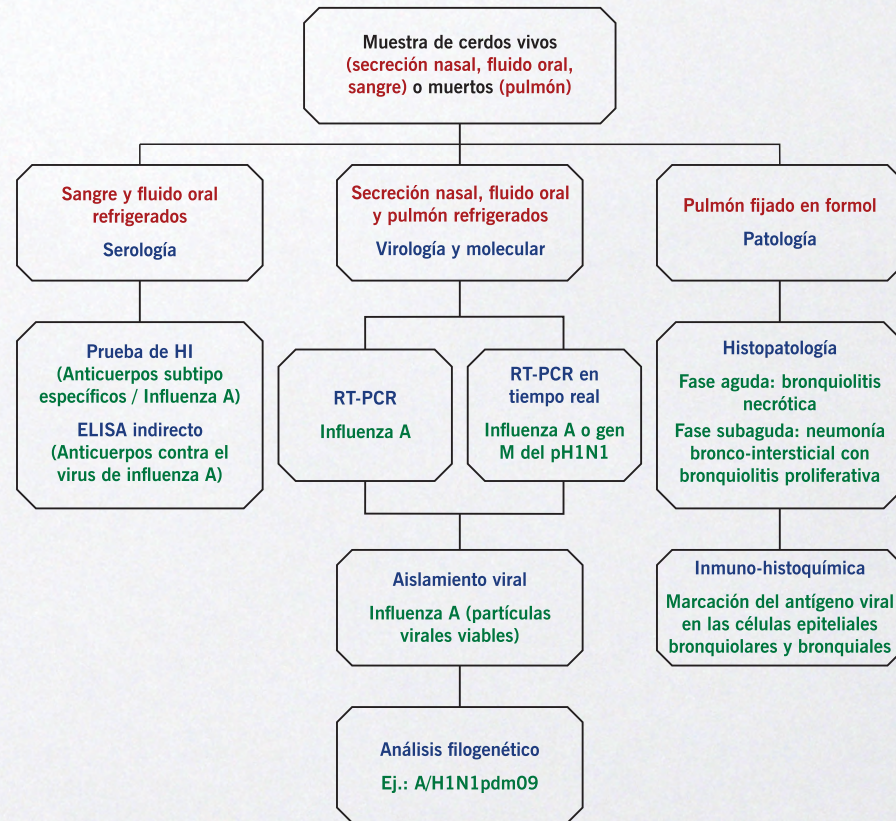


Diagnóstico en el laboratorio

El diagnóstico de influenza es más eficaz cuando se toman muestras biológicas de varios cerdos. Esto aumenta considerablemente la probabilidad de tener animales muestreados durante el pico de la excreción viral, o con una gran cantidad de virus en los pulmones, lo que aumenta las posibilidades de obtener un diagnóstico positivo.

El diagnóstico exitoso depende de la selección correcta del cerdo en la fase aguda de la enfermedad y de la toma y el envío de la muestra al laboratorio apropiado. Las muestras (en rojo) y los resultados (en verde) de las principales técnicas de laboratorio (en azul) en el diagnóstico de influenza en porcinos se resumen en la siguiente tabla abajo.



Puntos clave para el diagnóstico exitoso de influenza A en cerdos

Etapa	Orientaciones
Selección del animal	<ol style="list-style-type: none"> 1. Elegir un cerdo con temperatura rectal elevada (40,5-41,5°C), esto indica que se encuentra en la fase aguda de la enfermedad 2. Evitar animales desmedrados, medicados o que murieron de forma espontánea
Toma de la muestra	<ol style="list-style-type: none"> 1. Secreción nasal: introducir profundamente el hisopo sintético en la cavidad nasal 2. Sujetar adecuadamente el cerdo para extraer la sangre 3. Esperar la retracción del coágulo para obtener el suero 4. Ubicar correctamente la cuerda de algodón en el corral para obtener fluido oral 5. Tomar muestras con lesión pulmonar de cerdos muertos recientemente
Acondicionamiento y envío de las muestras al laboratorio	<ol style="list-style-type: none"> 1. Identificar las muestras 2. Refrigerar las muestras para pruebas virológicas 3. Depositar las muestras en formalina al 10% para histopatología e inmuno-histoquímica 4. Empacar adecuadamente las muestras para evitar fugas o compresión de los tejidos 5. Diligenciar correctamente el formulario de envío de muestras 6. Enviar rápidamente al laboratorio

Autores: Danielle Gava, Raquel R. Rech, Rejane Schaefer, Marcia C. Silva, Janice R. Ciacci-Zanella
Revisión Técnica: Jean Carlos P. V. B. Souza, Luizinho Caron, Marcos Antônio Zanella Morés
Traducción: Lucía Cano Ortiz
 Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá
 Grupo de Investigación en Microbiología y Epidemiología
 Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia

La información de este folleto es una compilación del trabajo publicado: Schaefer et al. Orientações para o diagnóstico de influenza em suínos. Pesquisa Veterinária Brasileira. v. 33, p. 61-73, 2013. Disponible en www.pvb.com.br
 Dudas: Entre en contacto con el Equipo de Virología de Porcinos de Embrapa (e-mail: rejane.schaefer@embrapa.br).

INFLUENZA

Diagnóstico de influenza A en porcinos: de la granja al laboratorio



Influenza en porcinos

Es una enfermedad respiratoria viral aguda, altamente contagiosa, causada por el virus de influenza tipo "A", que afecta porcinos y otras especies incluyendo humanos. Actualmente en Brasil los subtipos circulantes en porcinos son: H1N1 pandémico (pH1N1), H1N2, H3N2 y sus variantes.

¿Cómo ocurre la transmisión e infección por el virus de influenza?

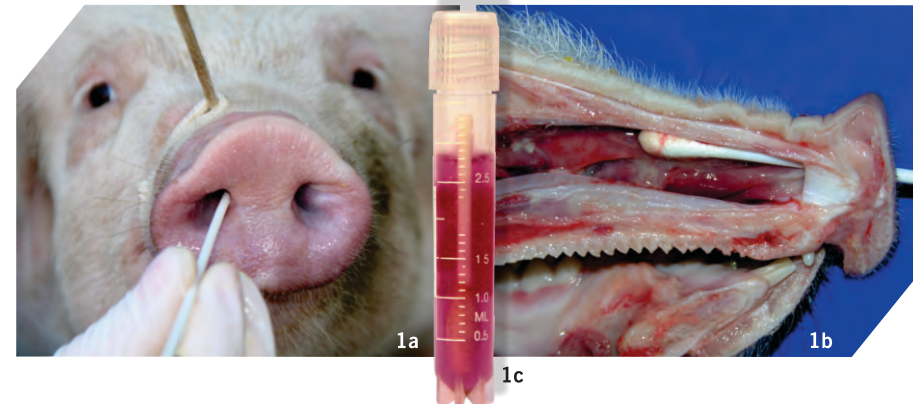
La transmisión se produce por contacto directo entre cerdos, por medio de secreciones nasales de animales infectados y/o enfermos, debido a que el virus se replica en el epitelio respiratorio y es excretado a las 24 horas luego de la infección por un periodo de seis a ocho días (ver línea de tiempo más abajo).

Toma de muestras para el diagnóstico en el laboratorio

En cerdos vivos las muestras adecuadas son secreciones nasales y fluido oral. La extracción de sangre para la obtención de suero (Fig. 4) utilizado en pruebas serológicas, tiene valor diagnóstico limitado y se usa para determinar el estado inmune de la pira, sin indicar enfermedad clínica. En cerdos muertos, el pulmón es la muestra elegida (Fig. 2).

1. SECRECIÓN NASAL

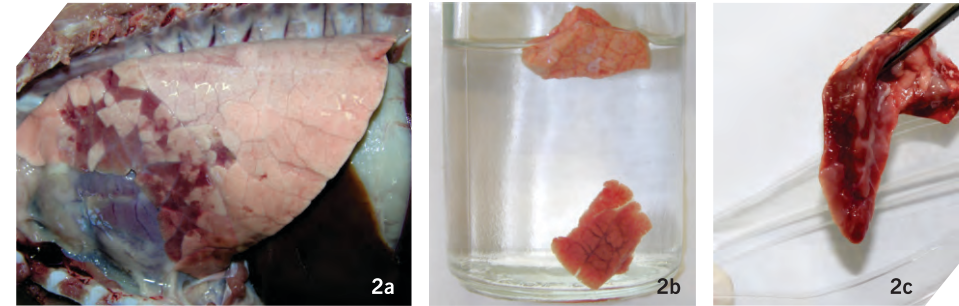
Para tomar muestras de secreción nasal, humedecer el hisopo sintético en el medio de transporte e introducirlo en la narina en dirección dorso-medial (Fig. 1a) involucrando el septo nasal (Fig. 1b). Posteriormente, colocar el hisopo en el medio de transporte (Fig. 1c) y mantenerlo refrigerado (4-8°C) hasta su llegada al laboratorio. Para obtener el medio de transporte, entrar en contacto con el laboratorio.



2. PULMÓN

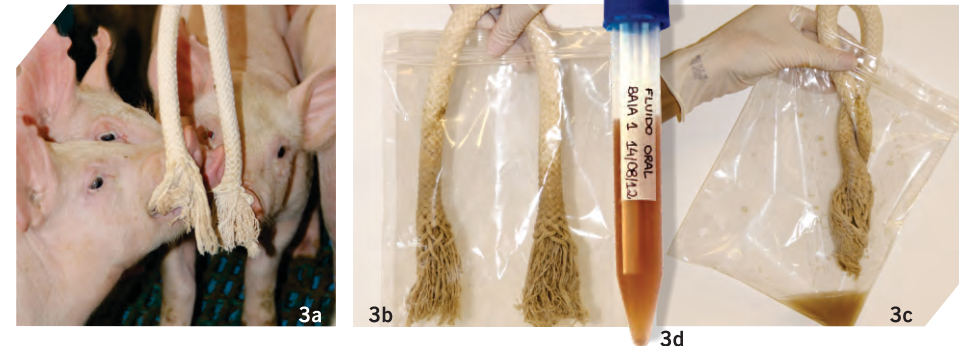
El hallazgo macroscópico típico de la neumonía por influenza en cerdos se caracteriza por áreas rojas ligeramente deprimidas (atelectasia) y más firmes (consolidación), afectando principalmente la región cráneo-ventral del pulmón. Sin embargo, la lesión puede extenderse caudalmente a lóbulos aislados, dando un aspecto de "tablero de ajedrez" (Fig. 2a). Para el examen histopatológico e inmuno-histoquímico, tomar muestras de pulmón de 1 cm de espesor comprendiendo áreas con lesión, bronquios y bronquiolos (áreas cerca a la tráquea) y colocarlas en un envase de boca ancha con formol tamponado al 10% (Fig. 2b), a temperatura ambiente. Para realizar pruebas de virología (aislamiento viral) y diagnóstico molecular (RT-PCR), tomar fragmentos de pulmón de los lóbulos afectados y mantenerlos refrigerados (Fig. 2c).

Para la prueba virológica no congelar las muestras en congelador convencional ya que el congelamiento a -20°C inactiva el virus de influenza.



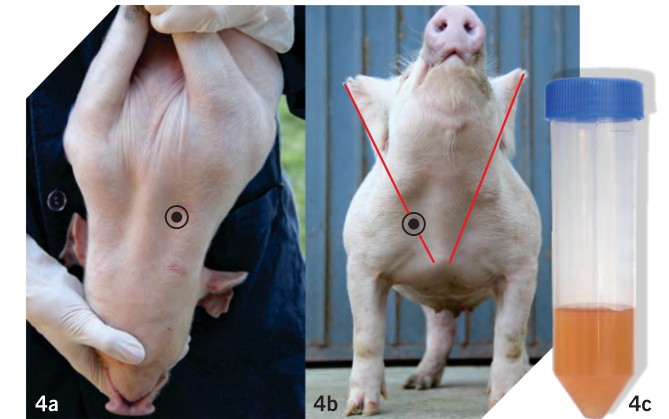
3. FLUIDO ORAL

Para tomar muestras de fluido oral, ubicar una cuerda de algodón de 1.5 cm de diámetro en el corral a la altura del hombro de los cerdos y dejarlo por 20 minutos aproximadamente para permitirles masticar la cuerda (Fig. 3a). Colocar la parte húmeda de la cuerda dentro de una bolsa plástica (Fig. 3b) y retorcerla para coleccionar el fluido dentro (Fig. 3c). Cortar una esquina de la bolsa plástica y transferir el fluido a un frasco de transporte (Fig. 3d). Mantener en refrigeración hasta su llegada al laboratorio.



4. SANGRE

Para tomar una muestra de sangre de cerdos de hasta 30 kg, colocar el animal en posición vertical, con la cabeza ligeramente inclinada hacia abajo (Fig. 4a). Para los cerdos con un peso mayor a 30 kg, ubicar el animal en posición de estación y dirigir la cabeza hacia arriba hasta formar un ángulo de 30°. Se trazan dos líneas imaginarias (rojas) desde la punta de cada oreja hasta el esternón para ubicar la fosa de la yugular (Fig. 4b). Insertar la aguja en el punto negro del círculo, preferiblemente en el lado derecho del animal para evitar lesionar el nervio vago izquierdo. Luego de tomar la muestra, mantener la sangre en la jeringa a temperatura ambiente (21-23°C) por lo menos durante dos horas para permitir la formación del coágulo y separación del suero. Retirar el émbolo y transferir el suero a un tubo (Fig. 4c), para evitar la hemólisis. Mantener en refrigeración hasta su llegada al laboratorio.



¿Cómo se manifiesta la enfermedad en la granja?

Cuando es introducida por primera vez en la granja, la enfermedad aparece en su forma epidémica afectando hasta el 100% de los animales de diferentes grupos etarios. Una vez establecida (forma endémica), la enfermedad suele aparecer en la fase de cría en piraas no vacunadas, ya que los anticuerpos maternos persisten hasta la sexta semana de vida. Las reinfecciones pueden ocurrir, ya que la inmunidad cruzada entre subtipos virales es parcial.

Signos clínicos de cerdos afectados: temperatura rectal elevada (40,5-41,5°C), anorexia, postración, secreción serosa óculo-nasal, taquipnea y, después de unos días, tos. A pesar de que la tos es el signo clínico más sugestivo de la infección por el virus de influenza, los animales con tos ya no tienen tanta cantidad de virus en los pulmones.

La mortalidad es baja (1%) y la recuperación es rápida, entre cinco y siete días después del inicio de los signos clínicos, si no se presentan complicaciones debido a infecciones bacterianas secundarias.

LÍNEA DEL TIEMPO DE LA INFECCIÓN POR EL VIRUS DE INFLUENZA EN PORCINOS

