



**Version.2024.05.01**

*Please note: This situation is evolving rapidly; this is guidance is subject to change. Check back frequently for updated versions. The intended audience for this document is all laboratories testing for Influenza A in livestock.*

**Testing Guidance for Influenza A in Livestock**

**Table of Contents**

Background..... 1

Required Testing of Lactating Dairy Cattle for Interstate Movement at an Approved NAHLN Laboratory.. 1

Voluntary Testing of Cattle..... 2

*Testing suspect cattle*..... 2

*Testing higher risk cattle*..... 3

*Testing pooled milk*..... 3

Testing Wildlife..... 3

Testing Sick or Dead Cats or Other Companion Animals near Affected Premises ..... 3

Reporting Requirements for Laboratories ..... 3

**Background**

In order to continue to monitor and understand the extent of this virus and reduce the risk of further disseminating Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) H5N1 virus, resulting in greater threats to poultry and livestock, APHIS issued a [Federal Order](#) on April 24, 2024 that requires pre-movement testing for lactating dairy cattle moving interstate and reporting of positive Influenza A nucleic acid detection diagnostics results from all laboratories and State Animal Health officials.

**Required Testing of Lactating Dairy Cattle for Interstate Movement at an Approved National Animal Health Laboratory Network (NAHLN) Laboratory**

Approved NAHLN Laboratories – Please check the [NAHLN website](#) for NAHLN laboratories approved to test for avian influenza.

Lactating dairy cows must be tested prior to movement (Samples must be submitted to a NAHLN Laboratory):

Collect milk/udder secretions from individual cows. Ensure each quarter is sampled, as there have been reports of only one quarter having virus. Combine the milk from each quarter into one sample for submission to the laboratory. Submit between 3-10 ml of milk per animal.

NAHLN Laboratories may pool milk samples from up to 5 cows together, this must be done in the laboratory.

NAHLN laboratories will conduct NAHLN-approved PCR testing: FluA matrix, H5 and optionally 2.3.4.4b.

## Voluntary Testing of Cattle

While interstate movement testing of lactating dairy cattle is required per the [Federal Order](#), producers and veterinarians may choose to conduct additional testing to manage HPAI suspect or affected herds to better protect their herds. If this testing is performed at NAHLN laboratories, APHIS will support the testing costs provided they obtain a FAD number (for sick cattle) or include a premises ID and follow the testing guidance below. APHIS will reimburse for Influenza testing at NAHLN laboratories associated with this event for the following submission reasons:

- Suspect cattle
- Apparently healthy cattle that have been exposed to or epidemiologically linked to suspect or confirmed positive HPAI cattle
- Cattle from producers concerned their cattle may have HPAI
- Sick or dead domestic animals near affected premises
- Wildlife (reason for submission must indicate emerging event)
- Monitoring of healthy cattle via bulk tank samples (approved participation per protocol specified below)

### *Testing suspect cattle*

See the [case definition](#) for a complete description. Briefly, dairy cattle may experience a sudden drop in feed intake, a marked drop in herd level milk production with some more severely affected cows having thickened milk or may have essentially no milk, or respiratory signs including clear nasal discharge.

Suspect cattle may also include exposed cattle showing no clinical signs.

### Samples to collect:

- If cows are lactating, one sample must be milk (mammary tissue if animal has died).
  - Milk/udder secretions. It is very important for each quarter to be sampled, as there have been reports of only one quarter having virus. Pool the milk from each quarter into one sample for submission to the laboratory. Submit between 3-10 ml of milk per animal.
- If cows are not lactating, deep nasal swabs are the best sample type.
  - A single sterile swab with at least a 6 in handle may be used to sample both nostrils. Ensure the mucosa in the nasal passage is brushed firmly with the swab. After both nasal passages have been sampled, the swab is placed in PrimeStore MTM, BHI, or Saline (least preferable). Vigorously swirl the swab in the media, express fluid by pressing the swab against the side of the tube and remove the swab. Do not retain the swab in the media. PrimeStore MTM is the only media that can be submitted without ice packs; do not submit dry swabs. Nasal swabs cannot be pooled.

### *Testing higher risk cattle*

- Because the sensitivity of nasal swabs is not known, animals introduced into the herd within 6 months of lactation should be sampled upon freshening.
- Non-lactating cattle such as springing heifers can be voluntarily tested using nasal swabs during movement and/or after quarantine.

### *Testing pooled milk*

Testing pooled (bulk tank) milk for herd characterization or recovery is currently under validation. Participation requires pre-approval. Please contact [NVSL.Info@usda.gov](mailto:NVSL.Info@usda.gov) for details.

### **Testing Wildlife**

Sampling dead and dying birds as well as mammals particularly around affected premises is encouraged. Contact the local wildlife agency or call USDA Wildlife Services at 1-866-4USDA-WS (or 1-866-487-3297). They can assist with identification and sampling. Birds are sampled by collecting oropharyngeal and cloacal swabs.

- Recommended samples from mammals include brain (preferred if clinically affected) or oral, nasal, or rectal swabs. After sampling, swabs should be placed in MTM or BHI.
- Wild bird mortality events in and around affected premises should be reported to the State Wildlife Agency or APHIS Wildlife Services at 1-866-4USDA-WS.
- Wildlife samples should be designated as “other” with “wildlife” specified on laboratory submission forms.
- Apparently healthy wildlife should not be euthanized solely for sampling. Nuisance wildlife removed with the appropriate State and Federal permits can be sampled with appropriate coordination with your local WS office or State Wildlife Agency.

### **Testing Sick or Dead Cats or Other Companion Animals near Affected Premises**

Cats are particularly susceptible H5N1 2.3.4.4b viruses; cats with neurologic disease and dead cats on affected dairies are widely reported.

- Brain swabs from affected cats (or whole carcasses) can be submitted to NAHLN laboratories.
- Other domestic animals associated with affected farms showing illness should be tested. Contact your NAHLN laboratory for consultation.

### **Reporting Requirements for Laboratories**

NAHLN laboratories already have reporting via electronic messaging in place with those requirements provided by the NAHLN Program Office.

All other laboratories testing samples from livestock for Influenza A virus must report all positive results regardless of the test method using the spreadsheet available [here](#).

- **What to report:** All positive influenza A test results with accompanying sample information collected Monday through Sunday of previous week.
- **When to report:** Report weekly - by 17:00 each Monday

- **Where to report:** Send completed spreadsheet to [HPAI.Results@usda.gov](mailto:HPAI.Results@usda.gov).
- **How to report:** Use only this [specified spreadsheet template](#). Submit only one spreadsheet per email; do not attach multiple spreadsheets in one email.

*Note, if there is a validation issue with the data submitted a return email will notify submitter of needed changes. Please make the changes and resubmit the spreadsheet as soon as possible to [HPAI.Results@usda.gov](mailto:HPAI.Results@usda.gov).*



**Versión.2024.04.26**

*Tenga en cuenta lo siguiente: esta situación evoluciona rápidamente, por lo que esta guía está sujeta a cambios. Consulte con frecuencia las versiones actualizadas. La audiencia a la que va dirigido este documento son todos los laboratorios que realizan pruebas de detección de la influenza A en el ganado.*

**Guía de pruebas requeridas para laboratorios sobre la influenza A en el ganado**

**Índice**

Antecedentes..... 1

Pruebas requeridas para el transporte interestatal de ganado vacuno lechero en un laboratorio aprobado de la Red Nacional de Laboratorios de Sanidad Animal NAHLN..... 1

Pruebas voluntarias de ganado vacuno ..... 2

*Pruebas de ganado vacuno sospechoso* ..... 2

*Pruebas de ganado vacuno de alto riesgo*..... 3

*Pruebas de la leche combinada* ..... 3

Pruebas en vida silvestre ..... 3

Pruebas a gatos enfermos o muertos u otros animales de compañía cerca de las instalaciones afectadas ..... 4

Requisitos de informe para los laboratorios..... 4

**Antecedentes**

Con el fin de continuar monitoreando y entendiendo el alcance de este virus y reducir el riesgo de una mayor propagación del virus H5N1 de la influenza aviar altamente patógena (HPAI, por sus siglas en inglés), lo que resultaría en mayores amenazas para las aves de corral y el ganado, el Servicio de Inspección Sanitaria de Animales y Plantas (APHIS, por sus siglas en inglés) emitió una [orden federal](#) el 24 de abril de 2024 que requiere pruebas previas al traslado para el ganado vacuno lechero lactante que se traslade interestatalmente y reportar los resultados positivos de las pruebas de todos los laboratorios y de los funcionarios estatales de sanidad animal.

**Pruebas requeridas para el transporte interestatal de ganado vacuno lechero en un laboratorio aprobado de la Red Nacional de Laboratorios de Sanidad Animal (NAHLN)**

Laboratorios de la Red Nacional de Laboratorios de Sanidad Animal (NAHLN, por sus siglas en inglés) aprobados, consulte la [página web de la NAHLN](#) para conocer los laboratorios NAHLN aprobados para realizar pruebas de influenza aviar.

**Las vacas lecheras lactantes deben someterse a pruebas antes del traslado (las muestras deben enviarse a un laboratorio NAHLN):**

Recoja muestras de las secreciones de la leche/ubre de las vacas de forma individual. Asegúrese de que se toman muestras de cada trimestre, ya que ha habido informes de que solamente un trimestre tenía el virus. Cada trimestre se toma una muestra y se combina en una sola muestra para enviarla al laboratorio. Las muestras enviadas deben tener entre 3 y 10 ml de leche por animal.

Los Laboratorios NAHLN pueden agrupar muestras de leche de hasta 5 vacas juntas; esto debe hacerse en el laboratorio.

Los laboratorios de la NAHLN realizarán las pruebas PCR aprobadas por la NAHLN: Matriz FluA, H5 y opcionalmente 2.3.4.4b.

### **Pruebas voluntarias de ganado vacuno**

Aunque las pruebas de traslado interestatal del ganado vacuno lechero lactante son obligatorias bajo la [orden federal](#), los productores y veterinarios pueden optar por realizar pruebas adicionales para manejar los rebaños sospechosos o afectados por la HPAI con el fin de proteger mejor sus rebaños. Si estas pruebas se realizan en los laboratorios de la NAHLN, el APHIS sufragará los costos de las mismas siempre que se obtenga un número de enfermedad de animal extraño (FAD, por sus siglas en inglés) (para el ganado vacuno enfermo) o se incluya el número de identificación de las instalaciones y se siga la guía para la realización de pruebas que se indica a continuación. El APHIS reembolsará las pruebas de influenza A en los laboratorios de la NAHLN asociados con este evento por los siguientes motivos de presentación:

- Ganado vacuno sospechoso
- Ganado vacuno aparentemente sano que ha estado expuesto o vinculado epidemiológicamente a ganado vacuno sospechoso o confirmado positivo de HPAI
- Ganado vacuno de productores preocupados de que su ganado pueda tener HPAI
- Animales domésticos enfermos o muertos cerca de las instalaciones afectadas
- Vida silvestre (el motivo de presentación debe indicar que se trata de un acontecimiento emergente)
- Monitoreo del ganado vacuno sano mediante muestras de tanques a granel (participación aprobada según el protocolo especificado a continuación)

#### *Pruebas de ganado vacuno sospechoso*

Consulte la [definición de caso](#) para obtener una descripción completa. En resumen, el ganado vacuno lechero puede experimentar una caída repentina de la ingesta de alimento, un marcado descenso de la producción de leche a nivel del rebaño, con algunas vacas más gravemente afectadas que tienen la leche espesa o pueden no tener prácticamente leche, o signos respiratorios que incluyen una secreción nasal clara.

El ganado vacuno sospechoso también puede incluir ganado vacuno expuesto que no muestre signos clínicos.

Muestras que se deben recoger:

- Si las vacas están lactando, una muestra que se debe recoger debe ser de leche (tejido mamario si el animal ha muerto).
  - Secreciones de leche/ubres. Es muy importante que se tomen muestras de cada trimestre, ya que ha habido informes de que solamente un trimestre tenía el virus. Combine la leche de cada trimestre en una sola muestra para enviarla al

laboratorio. Los envíos deben tener entre 3 y 10 ml de leche por animal.

- Si las vacas no están lactando, los hisopos nasales profundos son el mejor tipo de muestra.
  - Puede utilizarse un solo hisopo estéril con un mango de al menos 6 pulgadas para tomar muestras de ambas fosas nasales. Asegúrese de que se roce firmemente el hisopo en la mucosa del conducto nasal. Una vez tomadas las muestras de ambas fosas nasales, el hisopo debe colocarse en PrimeStore MTM, BHI o solución salina (lo menos preferible). Mueva enérgicamente de forma espiral el hisopo en el medio escogido, exprima el líquido presionando el hisopo contra el lateral del tubo y retire el hisopo. No guarde el hisopo en el medio. PrimeStore MTM es el único medio que puede enviarse sin bolsas de hielo; no envíe hisopos secos. Los hisopos nasales no pueden combinarse.

#### *Pruebas de ganado vacuno de alto riesgo*

- Dado que se desconoce la sensibilidad de los hisopos nasales, los animales introducidos en el rebaño dentro de los 6 meses de lactancia, deben ser sometidos a un muestreo en el momento de su introducción.
- El ganado vacuno no lactante, como las novillas de primavera, pueden someterse voluntariamente a pruebas con hisopos nasales durante el traslado y/o después de la cuarentena.

#### *Pruebas de la leche combinada*

La prueba a la leche combinada (en tanques a granel) para la caracterización o recuperación de rebaños está actualmente bajo validación. La participación requiere aprobación previa. Por favor, póngase en contacto con [NVSL.Info@usda.gov](mailto:NVSL.Info@usda.gov) para más detalles.

#### **Pruebas en vida silvestre**

Se recomienda realizar muestreos de aves muertas y moribundas, así como de mamíferos, especialmente en los alrededores de las instalaciones afectadas. Comuníquese con la agencia local de vida silvestre (WS, por sus siglas en inglés) o llame a los Servicios de Vida Silvestre del USDA al 1-866-4USDA-WS (o al 1-866-487-3297). Pueden asistirle con la identificación y el muestreo. Las aves se muestrean recogiendo hisopos orofaríngeos y cloacales.

- Las muestras recomendadas de mamíferos incluyen el cerebro (preferiblemente si está clínicamente afectado) o hisopos orales, nasales o rectales. Tras la toma de muestras, los hisopos deben colocarse en MTM o BHI.
- Los casos de mortalidad de aves silvestres en instalaciones afectadas o en sus alrededores deben notificarse a la Agencia Estatal de Vida Silvestre o a los Servicios de Vida Silvestre del APHIS llamando al 1-866-4USDA-WS.
- Las muestras de vida silvestre deben designarse como "otras" especificando "vida silvestre" en los formularios de presentación del laboratorio.
- La vida silvestre aparentemente sana no debe ser sacrificada únicamente para el muestreo. La vida silvestre que cause molestias, que haya sido retirada con los permisos estatales y federales correspondientes, puede ser muestreada con la coordinación correspondiente con su oficina local del WS o con la Agencia Estatal de Vida Silvestre.

### **Pruebas a gatos enfermos o muertos u otros animales de compañía cerca de instalaciones afectadas**

Los gatos son particularmente susceptibles a los virus H5N1 2.3.4.4b; se han reportado ampliamente gatos con enfermedad neurológica y gatos muertos en lecherías afectadas.

- Los hisopos cerebrales de gatos afectados (o cadáveres enteros) pueden enviarse a los laboratorios de la NAHLN.
- Otros animales domésticos asociados con granjas afectadas que muestren la enfermedad deben ser sometidos a pruebas. Comuníquese con su laboratorio NALHN para cualquier consulta.

### **Requisitos de informe para los laboratorios**

Los laboratorios de la NAHLN ya tienen establecido el envío de informes a través de correo electrónico, con los requisitos para el envío de los mismos proporcionados por la oficina del programa de la NAHLN.

Todos los demás laboratorios que analicen muestras de ganado para detectar el virus de la influenza A deben notificar todos los resultados positivos, independientemente del método de análisis.

Los laboratorios deben reportar semanalmente al APHIS los resultados de las pruebas y la información sobre las muestras que las acompañan, enviando por correo electrónico una copia de la hoja de cálculo a [HPAI.Results@usda.gov](mailto:HPAI.Results@usda.gov).