

170  
Res

**INFLUENZA AVIAR EN MÉXICO: ESTUDIO RECAPITULATIVO.**

Tesis presentada ante la División de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia  
de la  
Universidad Nacional Autónoma de México  
para obtener el título de  
Médico Veterinario Zootecnista  
por:

Lillian Jane Meede Stevens

**ASESORES**

MVZ MC Miguel Angel Ceniceros Ruiz  
MVZ Ph D Guillermo Téllez Isaías

México, D.F.  
1995

**FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **DEDICATORIA**

Les dedico esta tesis a Dios mi Padre Celestial,  
a mis padres John Meede y Lilia Stevens, gracias por su cariño incondicional,  
a Jorge Luis Morales la persona a quien mas quiero, gracias por tu apoyo y ayuda,  
y a mis familiares, amigos y compañeros de de la facultad.

## **AGRADECIMIENTOS**

El autor desea expresar su sincera gratitud a  
Miguel Angel Ceniceros Ruiz y a Guillermo Téllez Isafas,  
a mi querida facultad,  
y a todos los animales por los cuales mi profesión existe.

## CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
HISTORIA.....	5
EPIZOOTIOLOGIA.....	7
ETIOLOGIA Y CARACTERISTICAS.....	17
PATOGENIA.....	22
SIGNOS Y LESIONES.....	24
INMUNIDAD.....	28
DIAGNOSTICO.....	30
TRATAMIENTO.....	37
CONTROL.....	39
ERRADICACION.....	59
LITERATURA CITADA.....	61
FIGURAS.....	72

## RESUMEN

MEEDE STEVENS, LILLIAN JANE. Influenza Aviar en México: Estudio Recapitulativo (bajo la dirección de Miguel Angel Ceniceros Ruiz y Guillermo Téllez Islas).

La influenza aviar es una enfermedad viral que puede causar grandes pérdidas en la industria avícola del país. Debido a esto, el médico veterinario zootecnista debe saber reconocerla y tener elementos de control en caso de un brote. Hasta el año de 1994, esta enfermedad era exótica en México, pero a principios de ese año se detectaron aislamientos del virus. México está ahora en un proceso de control de la enfermedad. La industria así como el gobierno y los médicos veterinarios zootecnistas están realizando una campaña para su control. Se requiere de un buen conocimiento del agente etiológico, así como de las presentaciones de la enfermedad y las medidas de control adecuadas para así poder combatir esta enfermedad. Este documento ha sido elaborado con una extensa revisión de la literatura disponible y con el se pretende dar un marco de referencia imparcial de los diferentes factores que pudieron o pueden contribuir al desarrollo de esta enfermedad en nuestro país. La intención es que el lector cuente con elementos de juicio para el manejo de esta epizootia.

## INTRODUCCIÓN

La Influenza Aviar (IA) es una enfermedad de distribución mundial, que considerada exótica en México. Esto fué hasta que un virus de IA tipo A H5N2 de baja patogenicidad, se aislo por primera vez, el 23 de mayo de 1994, en los estados de Querétaro e Hidalgo (60), siendo esto confirmado por la Comisión México Estados Unidos para la prevención y erradicación de la fiebre aftosa y otras enfermedades exóticas (CPA), y por el Centro de Referencia en Ames, Iowa, EUA (60).

Esta enfermedad fue descrita desde 1878 por Perroncito, investigador italiano. La IA se diagnosticó por primera vez en pollos de América del Norte en el año de 1924, y se diseminó en varios estados Norteamericanos llegando hasta Missouri. Este volvió a aparecer en el condado de Morris en Nueva Jersey, en el año de 1929. Ambos brotes fueron erradicados (47). Fué hasta 1955 que se demostró que la IA era causada por un virus de influenza. En la década de los 70's se tuvo un incremento en los aislamientos de IA (2). Debido a esto, para el año de 1981 la enfermedad ya era considerada como un problema mundial, y por este motivo se decidió realizar un simposio internacional sobre la misma (25). En el año de 1983, se detectó en Estados Unidos un virus de IA tipo A H5N2 de baja patogenicidad, pero para octubre de ese mismo año ya era patógeno (18), esto debido a una mutación o serie de mutaciones en el gene de la hemaglutinina (50) lo cual nunca había sido reportado en el mundo. Este brote fué en los estados de Pennsylvania y Virginia, y se logró erradicar a través de un programa que incluía: estricta cuarentena, muestreo serológico secuencial de toda la población con eliminación inmediata de parvadas contaminadas, y educación intensiva de aspectos de bioseguridad (29). Se considera que las aves migratorias pueden diseminar este virus en el mundo, y que estas mismas aves tienen las condiciones óptimas para la recombinación genética entre diferentes cepas de virus de IA tipo A y humanas dando cepas híbridas nuevas (10). El pato, ganso y otras aves acuáticas pueden ser consideradas como reservorio natural del virus IA (21,35). Además de estas especies, el virus se ha encontrado en gaviotas, golondrinas marinas, aves de litoral, pingüinos, focas, lobos marinos, nutrias, y ballenas (27). En el año de 1975 Easterday sugirió que las aves migratorias introdujeron el virus a las aves domésticas (29). Esta enfermedad es de transmisión directa e indirecta, ya sea por personal, equipo, u otros animales (87). También se informa que puede ser transmitida por aerosoles de una parvada a otra, o por medios mecánicos (105). La introducción de aves aparentemente sanas a parvadas de aves susceptibles es uno de los principales factores de transmisión de IA (57). Un cambio antigénico pueden causar panzootias y si no son tan grandes los

cambios pueden dar epizootias (78). El periodo de incubación para la IA puede ser desde unas horas hasta 2 ó 3 días (87).

La IA es causada por un virus de influenza tipo A, de la familia Orthomyxoviridae (20), envuelto de cadena sencilla de RNA. El virus es pleomórfico, de simetría helicoidal con proyecciones glicoproteicas (105). Dichas proyecciones son conocidas como hemoaglutininas y neuraminidasas, puede haber 13 hemoaglutininas y 9 neuraminidasas diferentes (50). Estas hemoaglutininas y neuraminidasas se combinan entre sí y dan diferentes subtipos (41). La hemoaglutinina determina la patogenicidad viral (16), y con estas el virus se adhiere a los glóbulos rojos, mientras que las neuraminidasas actúan como enzimas que rompen el ácido neuramínico, dando la separación del virus con el glóbulo rojo (87). Fraire menciona que la patogenicidad puede ser determinada por la secuencia de aminoácidos en el punto de unión de la hemoaglutinina. La infectividad del virus depende del rompimiento de este punto de unión, lo cual se lleva a cabo mediante las proteasas del huésped. La susceptibilidad de la hemoaglutinina a estas proteasas, depende del número de aminoácidos básicos que son sensibles a la acción de las enzimas similares a la tripsina, limitándose así al tracto respiratorio y digestivo. Los virus que tienen múltiples aminoácidos básicos en el punto de unión de la hemoaglutinina pueden replicarse ante la presencia de otras proteasas que se encuentran en el organismo y por ende invaden una gran variedad de órganos y tejidos resultando en una enfermedad generalizada y muerte. Si el virus es apatógeno, no se observan signos clínicos, ni mortalidad, no se aísla fácilmente de heces, ni se transmite a aves centinelas, produce respuesta inmune humoral en el 75% de las aves inoculadas con títulos entre 10 y 80, y hemoaglutina glóbulos rojos de ave. El virus patógeno si produce signos, se aísla fácilmente de heces entre los días 2 y 10 post inoculación. en aves recuperadas se encuentran niveles elevados de anticuerpos mayores a 1280, se aísla de encéfalo de aves muertas, y pierde su capacidad hemoaglutinante en congelación y descongelación sucesiva (30).

La IA es una enfermedad que afecta los aparatos respiratorio, digestivo, y nervioso de las aves domésticas y silvestres. Cabe mencionar que no existen signos clínicos característicos para infecciones producidas por este virus (87). Entre los signos que se pueden presentar tenemos: baja en la producción de huevo (34), depresión, boqueo, conjuntivitis espumosa, baja en la ingesta alimenticia, inflamación de los senos infraorbitales (68), plumaje erizado, huevos con cascarrón blando, cianosis de barbilla o de crestas (7), exudado mucoso nasal, estornudo, lagrimeo, ataxia, y diarrea. Las lesiones macroscópicas observadas también son muy variables (87), como: trastornos congestivos, hemorragias en piel, crestas, barbillas, senos infraorbitarios, conjuntiva, pulmón, y



sacos aéreos (87), traqueítis hemorrágica, neumonía con exudado purulento, sacos aéreos engrosados, así como hemorragias en proventículo, tonsilas cecales, y timo (98). Es importante recordar que en casos agudos de la enfermedad, las aves pueden morir sin presentar lesiones mneroscópicas (87).

La población avícola en México es altamente susceptible a esta enfermedad debido a que no tiene protección contra ella, ni se cuenta con suficiente información sobre ella ni de su posible comportamiento. Por este motivo es necesario revisar como se ha presentado la IA en otros países y que medidas han tomado para combatirla. Es a través de la revisión de esta información que se podrán tomar medidas efectivas en nuestro país contra esta enfermedad.

## HISTORIA

La IA fué descrita desde 1878 por Perroncito, investigador italiano quien diferenció esta enfermedad de aquellas causadas por bacterias (2). Sin embargo, existen reportes que datan del siglo XIV donde ya se habla de la existencia de esta enfermedad (113). En 1880 Rivolta y Delprato describieron esta enfermedad como una nueva entidad bajo el nombre de tífus exudativa (48). A principios del siglo XX se confundieron muchos casos de IA con enfermedad de Newcastle. La difusión de la enfermedad en esta época no era tan común debido a que había poca comunicación entre las granjas, o bien, en el caso de un brote, los gobiernos decidían eliminar todas las aves y realizar una cuarentena estricta en las áreas afectadas. En otros casos la mortalidad era rápida y en ocasiones del 100% tornándose autolimitante (2). Fue hasta el año de 1924 cuando la IA fue diagnosticada por primera vez en pollos de América del Norte, y volvió a aparecer en el condado de Morris en Nueva Jersey, Estados Unidos en el año de 1929; ambos brotes fueron erradicados (47). En 1934 investigadores australianos demostraron que este agente se replicaba en embrión de pollo (18). En 1941 McClellan y Hare demostraron que el virus de la influenza tenía la capacidad de hemoaglutinar eritrocitos de ave (2). Para 1955 se demostró que la IA era causada por un virus de influenza (56). En este mismo año investigadores alemanes, dirigidos por Schaeffer detectaron que este virus se encontraba diseminado por todo el mundo desde principios de siglo, y vieron que se trataba de un virus de influenza tipo A (18). Este mismo virus fue detectado por primera vez en patos en el año de 1956 (43). También en ese año se detectó un virus en pavos el cual hemoaglutinaba y se lo denominó virus Wilmot (54). Desde 1959 se han documentado 10 brotes de virus altamente patógenos (18). En 1961 se aisló por primera vez el virus en aves silvestres, este aislamiento fue en una golondrina silvestre (2). Para el año de 1968 ya se contaba con una clasificación serológica del virus, la cual era:

- Virus de la Clásica Peste Aviar
- Virus de Dinter N.
- Virus de pato de Checoslovaquia 1956 e Inglaterra 1962
- Virus de pato de Inglaterra de 1956
- Virus de aves escocesa de 1959 y Virus de Sudáfrica de 1961
- Virus de pavo relacionado al virus Wilmot (56).

En la década de los 70's se vió un incremento en los aislamientos de IA (2), además en esta década se muestrearon muchas aves migratorias para ver la prevalencia del virus en la naturaleza (18). Para

el año de 1981 la enfermedad ya era considerada como un problema mundial, y por este motivo se realizó un simposio internacional sobre la misma, para poder redefinir y tener conjunción de las maneras de pensar, de las ideas, y de los hallazgos (25); este simposio se enfocó en la definición de cepas altamente patógenas y en la identificación de las fuentes del virus (20). En el año de 1983, se detectó en Estados Unidos un virus de IA tipo A H5N2 de baja patogenicidad, pero para octubre de ese mismo año ya se había tomado patógeno (18). Este brote fue en los estados de Pennsylvania y Virginia (29). Como consecuencia, se llevó a cabo en México, en diciembre de 1983 la primera reunión sobre IA encabezada por parte del Comité Nacional de Sanidad Avícola, en esta reunión se resolvió que no se permitiría en México la importación de aves y productos avícolas procedentes de los estados cuarentenados de Estados Unidos. Además se llevaría a cabo una intensificación de la vigilancia epizootiológica en la población avícola del país así como de aves migratorias. Con base en los Artículos 68 y 77 de la Ley Federal de Sanidad Fitopecuaria, se estableció el deber de notificar por parte de los profesionales, técnicos, avicultores y toda persona relacionada con la industria avícola cualquier manifestación de tipo respiratorio que pudiera representar sospecha de la presentación de esta enfermedad en nuestro país; y con sanciones según lo estipulado por la ley si no se diera aviso. En enero de 1984 se llevó a cabo la segunda reunión sobre IA encabezada por el Comité Nacional de Sanidad Avícola (87). El 2o simposio internacional sobre IA tuvo lugar en 1986 (18); este se enfocó en el virus, los problemas y posibles soluciones en brotes con cepas altamente patógenas en pollos y pavos (20), y en 1992 se realizó el 3er simposio internacional sobre IA (18).

## EPIZOOTIOLOGIA

La Oficina Internacional de Epizootias define la IA como una enfermedad clínica en aves causada por cualquier serotipo de virus de IA tipo A que tenga una patogenicidad significante en pruebas de laboratorio (53). Para poder identificar cualquier virus de IA, se ha propuesto que su nombre lleve el tipo del virus, el hospedador original, el origen geográfico, el número de cepa, el año de aislamiento, su hemoaglutinina y su neuraminidasa (97), por ejemplo A/Chicken/Penn./1370/83 H5N2.

La IA es de distribución mundial, siendo reportado tanto en aves domésticas como silvestres (18,37,46), sin embargo no hay evidencia de que este virus haya estado presente en México antes de 1994 (98). Se debe tomar en cuenta que la información con la que se cuenta sobre la distribución y prevalencia de esta enfermedad se ve afectada por la distribución de las aves domésticas y silvestres, las áreas de producción avícola, las rutas migratorias de las aves silvestres, la época del año, y los sistemas de monitoreo de esta enfermedad (20).

En 1982 Lang reporto una disminución en el número de casos de IA en Canadá durante la década de los 70s; se postuló que esta disminución podía ser debida a la tendencia en esta época de criar a las aves en confinamiento total (3).

Los psitaciformes albergan al virus de influenza A, también se puede llegar a aislar de Musophagiformes como turacos y flamings (49). La IA afecta varios sistemas y puede causar una alta mortalidad. Esto difiere de la influenza de mamíferos donde no se ven estas características (23). Hay 3 tipos de virus de Influenza, estos son A, B, y C, los tipos B y C solo se presentan en humanos, mientras que el tipo A se presenta tanto en humanos como en animales (113). Otra característica de esta enfermedad es que su presentación puede ir de subclínica a severa (18).

Se han reportado cinco grandes brotes de IA de alta patogenicidad en el mundo hasta el año de 1995, estos son:

- Estados Unidos en 1929
- Australia de 1975-1985
- Gran Bretaña en 1979
- Estados Unidos de 1983 a 1984
- Irlanda de 1983 a 1984 (105).

El virus de IA puede infectar aves sin que éstas tengan signos clínicos, eliminando virus a través de heces. Este virus puede difundirse rápidamente en las parvadas, produciendo grandes pérdidas. Se

sabe que este virus se replica fuera del hospedador mas no sobrevive bien fuera de el. Su transmisión es horizontal, y hasta la fecha parece ser que el virus no es de transmisión vertical (13).

El pato es considerado como un reservorio natural del virus de IA (21,35), de igual forma se considera que otras aves migratorias y marinas diseminan esta enfermedad, siendo reservorios y pudiendo infectar a otras aves y mamíferos (3,10,20,31,35,43,56). Otros autores mencionan que se debe considerar a todas las aves acuáticas como infectadas por el virus de IA (70). En estudios realizados en Alberta, Canadá con aves acuáticas se observó que habían subtipos diferentes de este virus circulando en la naturaleza (43), el virus de IA esta completamente adaptado a las aves acuáticas silvestres ya que no les causa signos de enfermedad (10,115), por este motivo se dice que las aves acuáticas tienden a ser resistentes al virus, mientras que para pollos y pavos puede ser altamente patógeno (4). Se menciona que no han habido brotes de influenza que causen mortandad o signos clínicos en patos, solo hay un reporte en que aves marinas fueron infectadas por una cepa patógena de virus de IA causando mortandad (27). Esto aconteció en Sudáfrica en el año de 1961 con golondrinas marinas (*Sterna htrundo*), se temió que este brote se diseminara a las aves domésticas del área (16,27,66). Los hábitos gregarios de los patos, gansos y aves marinas favorecen la transmisión del virus (27), además Alexander sugerido que la relación geográfica entre los brotes de influenza en aves domésticas y las rutas de migración son evidencia de la introducción primaria por medio de aves acuáticas hacia la industria avícola (3).

En un estudio que se llevó a cabo en 1984, se vio que los virus de IA recombinados con hemoaglutinina de virus de influenza humana no se replicaron en patos, sin embargo, cuando este virus sufrió mutaciones en el sitio receptor-unión, si se replicó en esta especie. Estos investigadores postularon que hubo un cambio en el tropismo del virus, ya que se replicó en tracto gastrointestinal de estos animales (64).

Es importante la primera migración de las aves silvestres al sur, las crías nacidas en el verano ártico se reúnen en lagunas, esta congregación coincide con el momento en que dichas aves completan su cambio de pluma y terminan su desarrollo para poder emigrar, para este tiempo, ya han perdido total o parcialmente la inmunidad materna con la que nacieron, por lo cual pueden infectarse al entrar en contacto con el virus (27). Se cree que el virus puede ser preservado en congelación en el hielo o en el agua de lagos y puedan reinfectar a las aves durante la primavera siguiente. Las aves juveniles sero negativas, que nacieron en los meses de abril a junio son los que se infectan asintóticamente, para agosto y septiembre cuando están listas para migrar, presentan el máximo índice de infección, razón por lo que hasta un 30% de los patos juveniles eliminan el virus de IA. Durante este período

migratorio es cuando hay mayor eliminación del virus. En este tipo de aves se han identificado casi todos los serotipos del virus de IA. Conforme las aves van avanzando en su migración, su respuesta inmune va aumentando, y por ende disminuyendo la cantidad de virus que eliminan, significando que cuando llegan a México sus niveles de anticuerpos son altos y la eliminación del virus es casi nula, tendencia que continúa cuando regresan al norte del continente (20,27). Se ha visto que los patos excretan el virus hasta por 30 días, indicando que se requieren pocos ciclos de transmisión para mantener el virus en estas aves. Es posible que el virus sea mantenido durante todo el año en la población de patos silvestres por el pase a patos susceptibles, aunque esto sea en pocos casos.; la tendencia continúa hasta la próxima temporada de apareamientos, la cual da un nuevo grupo de aves juveniles susceptibles (20,44).

Se dice que la mayor incidencia del virus en Estados Unidos es durante el verano, cuando se lleva a cabo la época de apareamiento de aves silvestres (41). Se ha visto que la introducción del virus de IA generalmente coincide con la migración de las aves acuáticas y otras aves silvestres; su patrón migratorio puede ser un mecanismo mediante el cual el virus de IA es transportado a través de grandes distancias y ser diseminado en cada área de descanso de las aves migratorias (47). Se sabe que de un año a otro varían los serotipos virales presentes en esta fauna, siendo afectado por el origen de la ruta migratoria (27).

Se reporta que en Inglaterra hay presencia continua del virus de influenza en granjas de engorda de patos (3), se realizó un estudio utilizando virus recuperado después de haber sufrido replicación intestinal en patos, y no hubo mortalidad en los embriones inoculados con este virus. Esto sugirió que la presión de selección de los patos favoreció el desarrollo de una población viral avirulenta (121). Aquí cabe mencionar que más del 99% de las cepas aisladas en patos y aves marinas son apatógenas tanto para aves silvestres como para pollos y pavos domésticos, además en un estudio se determinó que un virus que sufrió variación al replicarse en patos, no causó enfermedad en pollos pero si se replicó en estos últimos (41). Los serotipos de hemoaglutininas más frecuentes en patos y gansos son H3 y H6, mientras que en gaviotas, golondrinas marinas y otras aves marinas los serotipos más frecuentes son H4, H9, H11, y H13, los cuales difícilmente se encuentran en patos. En cuanto a las neuraminidasas, las más comunes en patos son N2, N6, N8, y en gaviotas son las N6, N9, N5 (27). La diversidad genética del virus IA en este reservorio puede ser importante para su sobrevivencia en la naturaleza (20). Se ha visto que cuando el virus de IA se replica en patos, sufre alteraciones antigénicas en sus hemoaglutininas. Aunque el virus sufre alteraciones al infectar y replicarse en

patos, sigue siendo altamente virulento en pollos domésticos. Se sugiere que los posibles mecanismos de selección de las variaciones de este virus durante la replicación en los patos puede ser debido a:

- las presiones del sistema inmune
- las diferencias de los receptores de la célula huésped
- la especificidad del sustrato de la proteasa de la célula huésped requerida para el anclaje (73).

Se menciona que en pavos hay más incidencia de IA debido a que son criados al aire libre, y no en confinamiento ni en explotaciones intensivas (75). Cada año se detectan en pavos tanto el virus, como la enfermedad y anticuerpos contra ésta (70), por el contrario, tanto el virus como los anticuerpos contra la IA raramente se encuentran en pollos (70); de hecho, el primer aislamiento en Norte América del subtipo H5 fue en pavos (56). En estas aves, un virus de baja patogenicidad de IA causa pérdidas económicas debido a la pérdida de peso que causa. La infección en pollos puede causar mortalidad elevada, sin embargo en pavos la mortalidad es nula, o mínima debido a infecciones bacterianas secundarias (1,12,18). En patos la incidencia de IA es estacional, en los meses de julio y agosto. En pavos el virus se detecta 6 a 8 semanas después de su detección en patos continentales, esto puede ser por:

- Aumento en la actividad de las aves acuáticas en esta época.
- Vectores que llevan el virus de las aves acuáticas a granjas avícolas.
- Disminución de la temperatura ambiental y aumento de la viabilidad viral.
- Disminución de la temperatura del agua y aumento de la viabilidad viral.
- Contaminación de mantos acuíferos.
- Adaptación viral en pavos (35).

Un caso en Estados Unidos reportó que probablemente las aves acuáticas infectaron a los pavos de la explotación. El virus se multiplicó en el intestino de los patos, y al ser excretado contaminó los lagos, a su vez los pavos después tuvieron acceso al virus el cual estaba presente en el agua. Otro medio de transmisión pudo ser por contacto directo entre los dos tipos de aves (50). Kingenborn et al en 1985 postularon que las aves marinas puede ser la fuente original de virus de influenza H10N4, siendo esto confirmado por Alexander y Gaugh quienes observaron que este serotipo se encontró en aves de Inglaterra en marzo de 1985 (26). En un estudio se notó que cuervos y otras aves silvestres comían de los comederos de los pollos, y se especuló que existía la posibilidad que estas aves silvestres contaminaron el alimento a través de sus excretas (47).

Siempre se ha especulado entre la relación de los virus presentes en cerdos y el virus presente en pavos. Se reporto un aislamientos en pavos del virus subtipo H1N1 el cual afecta a cerdos (42), y en 1980 en Israel, se reporto que una parvada de pavos tuvo virus de IA subtipo H7N2. Este subtipo había sido aislado de aves migratorias 4 semanas antes a 1 km de distancia de la explotación, además, a 5 km había una explotación de cerdos los cuales presentaron influenza con un virus subtipo H1N2 (118). La transmisión mediante cerdos no puede ser descartada ya que los virus que afectan a los cerdos podrían llegar a infectar aves. Esto está documentado tanto en Europa como en Estados Unidos, siendo mas factible con el subtipo H1. Dicho mecanismo puede ser una fuente potencial de transmisión de la influenza en aves (18).

Se realizó un estudio para ver otros posibles huéspedes de este virus inoculando varias especies de aves con un virus de IA subtipo H5N2 altamente patógeno. En faisanes la enfermedad fue leve, en cerdos y aves acuáticas hubo signos leves o nulos, y en patos pekín no hubo signos clínicos, y solo en uno de 12 hubo replicación en tracto gastrointestinal. En los faisanes el virus se aisló en heces durante un mínimo de 15 días (121). También se reporta que el virus ha sido aislado de gallinas de guinea, codornices, gansos, cisnes, gaviotas, pericos, loros, cacatúas, halcones, monos (20), todo tipo de aves doméstica, emues y avestruces (13). En 1993 se aisló el subtipo H5N2 de avestruces de Texas y de aves de combate en el estado Norteamericano de Maryland (91).

En aves el blanco principal son las células epiteliales del tracto gastro intestinal, y se multiplica en pulmones (113).

Este virus se transmite por contaminación fecal de agua y alrededores (113). Se reporta que un gramo de materia fecal contiene hasta 10 millones de partículas virales, los huevos contienen altos niveles de virus tanto en clara como en yema (113); además se ha visto que el virus puede estar presente en la superficie del huevo cuando la gallina esta infectada (20). Se reporta que el virus puede ser transmitido entre explotaciones por roedores, aves silvestres, y personal (63); además, los gatos y ratones pueden infectarse con virus y ser portadores sanos de la enfermedad (97).

Un estudio Estadounidense mostró un virus de influenza subtipo H4N5 en focas; este subtipo solo había sido detectado en aves. Las focas estaban muriendo de neumonía viral en las costas de Nueva Inglaterra de junio de 1982 a marzo de 1983; el virus se replicaba en el tracto gastrointestinal de patos, lo cual no hacen los virus que afectan mamíferos. A través de este estudio se pudo ver que la transmisión del virus de aves a focas es factible en la naturaleza y puede ser evidencia de adaptación del virus aviar a mamíferos, pudiendo llegar a dar una evolución de nuevas cepas en mamíferos las cuales podrían llegar a ser pandémicas en humanos; sin embargo en este estudio no se detectaron



anticuerpos en las personas que trabajaron con las focas (40). La transmisión de un virus aviar a mamíferos es reforzado con el hecho de que hay investigaciones en donde se nota que cerdos y focas fueron infectados con virus de origen aviar (121). Otros investigadores han notado la detección de virus subtipo H13 de gaviotas en ballenas piloto, mismo que ha sido aislado en ballenas rayadas (39). En el año de 1984 se reportó en Suecia un brote de IA tipo A subtipo H10N4 en minks, causando alta morbilidad. Los estornudos y letargia en los animales más afectados se notó anorexia. A la necropsia se observó neumonía intersticial. Esta fue la primera vez que se detectó el virus IA en minks junto con una infección bacteriana secundaria. Loaria et al en 1959 y Geber en 1969 notaron que en otras especies, incluyendo al hombre las infecciones secundarias causadas por bacterias complican el curso de las infecciones de influenza (26), otros autores también mencionan que hay más problemas cuando esta enfermedad va acompañada de otros agentes contaminantes (18). Como este virus tiene una amplia gama de posibles huéspedes, da oportunidad de mantener el virus, y de que emerge una nueva cepa potencialmente de alta patogenicidad a través de mutaciones o recombinaciones genéticas (20).

La mayoría de los aislamientos de IA hechos en Estados Unidos han sido en pavos, aves acuáticas, y aves exóticas importadas (46,47). Se dice que en las aves de ornato hay una gran prevalencia de este virus, estas aves a su vez son comercializadas internacionalmente (18). De octubre de 1973 a septiembre de 1981, se sometieron 2,882,111 aves para importación a Estados Unidos, las aves fueron cuarentenadas y monitoreadas para realizar pruebas de aislamiento viral. Un 24.5% de los lotes importados presentaron virus que hemaglutinaban y que no eran virus de Enfermedad de Newcastle; de estos, 20% fueron virus de IA subtipos H3, H4, H7, H10, N4, N7, y N8. Se notó que la frecuencia en que se aisló el virus de IA disminuyó de 64% en 1974 a 0.2% en 1981, y los subtipos de hemaglutininas y neuraminidasas que se detectaron cambiaron de año a año (93).

En cuanto a la difusión, la mayoría de las infecciones de IA parecen ser por introducción de nuevos virus y no por diseminación de infecciones endémicas. La eliminación del virus por vía respiratoria puede ser responsable de la diseminación de la enfermedad dentro de una parvada; el contagio vía aérea puede ocurrir en distancias limitadas mientras que la eliminación por vía digestiva puede ser la responsable de la diseminación entre parvadas. Los insectos y roedores son considerados vectores mecánicos (7,121). Además, el virus puede ser difundido mediante cadáveres, fluidos corporales, albúmina, yema y cascarón (19), personal, equipo, animales (13), manejo inadecuado de aves muertas, gallinaza y otros productos avícolas contaminados, tapas y cajas de huevo, ropa,

equipo, vehículos que han estado en contacto con parvadas infectadas, aves, alimento, caliza, fertilizante, grano, ingredientes para el alimento, ganado, piedra, grava, paja, suministros, charcos, fuentes o agua que atraen aves silvestres, material sucio y la introducción de aves aparentemente sanas a parvadas susceptibles (57).

Los expendios de pollos representan una fuente de diseminación importante para esta y otras enfermedades infecto-contagiosas, debido a como se trabaja en ellos. Estos expendios reciben pollo de diferentes lugares, incluso de otros estados y lo distribuyen al público. Los introductores van a las granjas sin tener control de jaulas, mortalidad y pollinaza. Hay investigadores que especulan que el virus de IA pasa de reservorios naturales a mercados de aves vivas y luego llega a las granjas al llevar aves a las granjas (18). En general los mercados de aves vivas tienen gran riesgo de infectarse y actuar como un medio de diseminación del virus de IA (70).

En 1975 Webster y Laever postularon que algunos virus aviáres de influenza A están antigénica y genéticamente relacionados al del humano, esto también fue notado por Rhode et al en el año de 1978. Webster y Laever propusieron en 1975 que el virus podría evolucionar a nuevas cepas humanas; sin embargo, en este trabajo no se relacionó el virus de IA con afección al personal; no hubo evidencias concretas que un virus de IA afecta al humano (43). Por otra parte se dice que las pandemias de influenza en humanos muchas veces comienzan por combinaciones genéticas entre virus humanos y virus aviáres que pueden llegar a presentarse en cerdos. Cada 10 a 20 años aparecen nuevos antígenos de superficie en la naturaleza, para los que no hay anticuerpos neutralizantes en el humano. Hay evidencias de que los cerdos pueden infectarse con virus de influenza y transmitirlo a humanos, aves, y otros cerdos. Esto es importante ya que en muchos lados las excretas de cerdo son utilizadas como fertilizantes o alimento en explotaciones de pescados, pudiendo ser ésta una fuente de diseminación del virus, lo que puede ser de gran impacto ya que el pescado es para consumo humano (94). También hay evidencia de que el virus subtipo H1N1 presente en cerdos, pavos y patos puede estar involucrado en transmisión entre especies como la suino-aviar-humano (20). Se especula que un pavo puede infectar a personas durante la matanza y estas transmitirlo al cerdo o viceversa (38). En infecciones experimentales algunos virus de IA se replican limitadamente en humanos (20). En Estados Unidos un técnico de laboratorio se infectó de un virus serotipo H1N1; esta persona tuvo fiebre, enfermedad respiratoria, eliminación viral, y seroconversión (38). Sin embargo la transmisión de virus de IA a humanos queda en la especulación. Además hay investigadores que mencionan que los humanos no actúan como portadores infectados (13).

Es importante recordar que los cambios antigénicos pueden causar panzootias y si no son muy grandes los cambios pueden dar epizootias (78). Sin embargo, cuando un virus es muy patógeno, los brotes se vuelven autolimitantes (52); esto puede ser explicado por el hecho de que las cepas virulentas que aparecen en la naturaleza se diseminan y matan rápidamente a sus huéspedes (109).

En cuanto a la epizootiología de la enfermedad en México, el 23 de mayo de 1994 se le informó a la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos de 3 aislamientos de virus de IA subtipo H5 en pollos de 6 semanas de edad. En estos pollos se observaron signos respiratorios y mortalidad entre el 12 y 18%. Estos pollos provenían de parvadas de engorda localizadas en granjas de los estados de Querétaro, México, e Hidalgo. El dato fue confirmado el mismo día por la CPA, y para el 26 de mayo el Laboratorio Nacional de Servicios Veterinarios de Ames Iowa confirmó que el virus era del subtipo H5N2 apatógeno. Para determinar la actividad viral en las zonas avícolas de los diferentes estados del país, se solicitó el envío de muestras al laboratorio de la CPA. Los laboratorios de diagnóstico buscaron en sus congeladores fluidos amniocelulares de aquellos casos respiratorios de difícil diagnóstico del otoño-invierno de 1993, y los enviaron al laboratorio de la CPA (30). Algunos de estos casos fueron confirmados como IA, siendo el más antiguo del estado de México, en octubre de 1993 (85). Un brote que hubo en México al finales de 1993, fue diagnosticado en su momento como *Haemophilus paragallinarum*. La parvada fue tratada como si el agente principal fuera esta bacteria. El problema mejoró, y no fue hasta que se revisaron las muestras congeladas que se encontró el agente hemoaglutinante (68). El caso anterior ejemplifica lo que pasó durante esta época con los casos de diagnóstico difícil. Se supuso que si el virus permanecía en forma subclínica en las aves, podía mutar, y al afectar aves susceptibles incrementaría su virulencia (30). Mediante estudios realizados anteriormente, se había especulado que solo se necesitan pocos cambios para que virus avirulentos subtipos H5 y H7 se volvieran virulentos (41).

El virus presente en México comparte determinantes antigénicos similares a los que presentó el virus de Pennsylvania en 1983 el cual también fue subtipo H5N2, de baja patogenicidad para aves domésticas y que en un período de 6 meses mutó para ser altamente patógeno sin cambiar su subtipo inicial, ocasionando grandes pérdidas económicas en la avicultura Norteamericana (21). De agosto a diciembre de 1994 se detectaron virus de IA en los estados de Aguascalientes, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, México, Morelos, Puebla, Querétaro, Veracruz, y Distrito Federal. Se les declaró como estados libres a Sonora, Sinaloa, Yucatán. Para diciembre de 1994 en Tehuacán, Puebla se detectó un virus de IA de mediana virulencia. En enero de 1995 se detectó uno de alta virulencia en Tehuacán, Puebla y Querétaro, siendo esto confirmado por la CPA. También en este mes se detectó

un virus de mediana virulencia en Topatitlán, Jalisco (83). Los virus de baja patogenicidad pueden interferir con los virus de alta patogenicidad cuando ambos infectan al mismo pollo, y dá la apariencia de que es una cepa menos patógena (112). Se reporta que los animales susceptibles de contagio en México son las gallinas ponedoras que son aproximadamente 1.25 millones (5). Mediante la secuencia de aminoácidos del virus se determinó parentescos entre el virus que se presentó en México y virus que se han presentado en Estados Unidos (69), se vió que este es muy parecido a aquellos aislados en:

- los estados de Florida y Pennsylvania de Estados Unidos en el año de 1993,
- uno aislado de un ave acuática en el estado de Delaware, Estados Unidos,
- uno aislado recientemente en Inglaterra.

Se especula la posibilidad de que el virus haya entrado a México a través de las aves migratorias (113), otros investigadores sugieren que el virus aislado en México se originó de aves de la familia *ratidae*; se menciona que se pueden detectar anticuerpos en aves *ratidae* debido al contacto de estas con aves acuáticas (69).

En un estudio epidemiológico que se llevó a cabo entre 1972 y 1973 en el estado Norteamericano de California, se aisló en virus de IA en aves acuáticas (47). Antes del brote de Pennsylvania en 1983, se detectaron anticuerpos contra el virus subtipo H5N2 en aves migratorias y en pavos cerca de este estado. Durante el brote hubo presencia tanto del subtipo H5 como de N2 en aves silvestres del área, sin embargo, la combinación H5N2 tal cual no estuvo presente en aves migratorias por lo tanto estas no fueron las responsables de su diseminación (37). Algo curioso de notar es que a finales del brote ocurrido en Pennsylvania, se realizó una vigilancia epidemiológica. Durante este tiempo hubo varios aislamientos, pero el virus subtipo H5N2 fue aislado de un solo pato. Los autores de este estudio dedujeron que debido a que este subtipo solo se aisló de un solo pato, el contagio de pollos domésticos a partir de las aves silvestres de la zona durante este brote fue poco probable (27,41). Esta deducción es reforzada con un estudio en el cual se infectaron aves silvestres con el virus A/Chicken/penn./1370/83, se vió que en estas aves la replicación del virus era limitada y por lo tanto la eliminación de este agente a través de heces era casi nula. Esto reforzó lo anteriormente estipulado de que las aves acuáticas silvestres no fueron las que transmitieron el virus a granjas de pollos durante el brote de 1983 en Pennsylvania (66). Aquí se sugiere que si este virus del Pennsylvania se originó en aves acuáticas, sufrió cambios de especificidad de huésped y de la patogenicidad para pollos y otras aves *gallináceas* (121). Sin embargo es mas factible que en este brote la fuente de transmisión haya sido el hombre y equipo (29). Todavía en otro estudio de aves centinelas y roedores

en Estados Unidos, en los años de 1988 y 1989, se vió que estos tuvieron poca prevalencia de la cepa H5N2 descartando así la posibilidad de que estos fueran responsables de la diseminación del virus durante estos años (67).

Es curioso notar que las áreas donde ocurre la mayor concentración de aves acuáticas migratorias en México son en los estados de Tamaulipas, Sonora, Sinaloa, Tabasco, y la península de Yucatán; y que estas áreas son áreas libres de la enfermedad hasta el momento. Hay autores que especulan que es más factible que este virus se introdujo por la entrada de pollos, pavos y subproductos permitido por el tratado de libre comercio (27).

La vigilancia epidemiológica para esta enfermedad consta de

- 10 muestras de sangre por parvada en rastro
- muestreo de aves vivas en mercados
- hisopos traqueales y cloacales uno para cada 3 aves (91).

Siempre se debe de tener en mente que la IA puede ser un problema devastador en aves domésticas (41).

## ETIOLOGÍA Y CARACTERÍSTICAS

La IA es causada por un virus de influenza tipo A, de la familia Orthomyxoviridae (20), envuelto en una doble capa lipídica derivada del hospedador (115), y con una cadena sencilla de RNA de polaridad negativa. El RNA se presenta en ocho piezas separadas que codifican diez proteínas virales. Ocho de estas proteínas virales son estructurales (HA, NA, NP, M1, M2, PB1, PB2, y PA), y dos son no estructurales (NS1 y NS2). La M2 es una pequeña proteína que descansa en la envoltura lipídica que se deriva del plasma de la membrana de la célula huésped. Debajo de la envoltura del virus hay una proteína estructural importante denominada M1 que envuelve las moléculas de RNA en asociación con la nucleoproteína, tres grandes proteínas (PB1, PB2, y PA) son responsables de la replicación del RNA y la transcripción de éste. Los segmentos de RNA con pesos moleculares más pequeños codifican las dos proteínas no estructurales (NS1 y NS2) (20) y pueden ser detectadas en la células infectadas. La NS1 ha sido asociada con inclusiones en el citoplasma, pero la función de estas dos proteínas aún no ha sido identificada. Estas 10 proteínas separadas permiten la recombinación de información genética (20,78,88,116). La secuencia de aminoácidos del RNA esta involucrada en la patogenicidad del virus (103). Un solo cambio de RNA puede dar como resultado un cambio en la proteína viral. Algunos investigadores mencionan que si dos tipos diferentes de virus de influenza infectan una sola célula animal al mismo tiempo, las ocho piezas separadas del RNA de cada uno de los virus pueden mezclarse entre si y dar 256 diferentes virus (113). Se dice que la evolución continua es mas frecuente en las glicoproteínas superficiales de los virus de influenza, pero también puede ocurrir en cada uno de los ocho segmentos genéticos de éste (115).

Otras características del virus son: que es pleomórfico, de simetría helicoidal (105), mide aproximadamente 190 nm de diámetro (18), y tiene proyecciones glicoproteicas en su superficie las cuales miden de 100 a 130 armstrongs (18). La composición química del virus es:

- 0.8 a 1% de RNA
- 70 a 75% de proteína
- 20 a 24% de lípidos
- 5 a 8% de carbohidratos

Los lípidos están en la membrana, la mayoría son fosfolípidos pero también hay colesterol y glucolípidos. Los carbohidratos presentes en el virus son ribosa, galactosa, manosa, fucosa, y glucosamina los cuales están en las glicoproteínas y glucolípidos. Las proteínas y los sitios de

glicosilación están en el genoma viral (20). Otra característica importante de este virus es la especificidad del huésped (18).

Las proyecciones glucoprotéicas que posee el virus en su superficie son conocidas como hemoaglutininas y neuraminidasas. Puede haber 13 hemoaglutininas y 9 neuraminidasas diferentes (50,51). Estas proyecciones están ancladas en la envoltura lipídica (18). Las hemoaglutininas tienen forma de bastón, mientras que las neuraminidasas tienen forma de hongo (20). Estas hemoaglutininas y neuraminidasas se combinan entre sí y dan diferentes subtipos serológicos no relacionados (41,51) los cuales permiten clasificar al virus. Las hemoaglutininas se clasifican del H1 al H13 y las neuraminidasas se clasifican del N1 al N9. La especificidad del tipo es determinada por la naturaleza antigénica de los antígenos de la nucleoproteína y la matriz.

Este virus puede sufrir diferentes tipos de cambios en su estructura. El primero es conocido como desvío antigénico que es cuando los cambios son mínimos en la hemoaglutinina y/o la neuraminidasa. Otro cambio es conocido como mutación de punto, cuando se ven afectados los genes que codifican las hemoaglutininas y las neuraminidasas (45). Esto es un reflejo de selección de las variantes en una población inmune (20). Otro tipo de cambio es el cambio antigénico, que involucra un cambio mayor de la hemoaglutinina y/o la neuraminidasa. La recombinación genética ocurre cuando hay dos virus distintos de IA.

La hemoaglutinina es la más abundante de las dos glucoproteínas de la superficie del virus. La porción más externa de la hemoaglutinina es denominada región del tallo, y es responsable del fenómeno de hemoaglutinación y de que el virus se pueda adherir a las células que va a infectar. Las células que van a ser infectadas tienen en su membrana ácido siálico, que es el sitio receptor para estas células huésped (18,31). La hemoaglutinina está involucrada en la fusión de la envoltura viral con membranas celulares a través de un segundo receptor, formando un puente entre las dos membranas, lo cual permite la penetración de la nucleocapsida a la célula. Tanto las proteasas celulares, como las endoproteasas, y las proteasas bacterianas específicas para la arginina están involucradas en esta activación (31). En varios estudios se ha mostrado que el anclaje de la hemoaglutinina en subunidades HA1 y HA2 son necesarias para la infectividad viral (45). En un estudio realizado en 1978, se creó un gene sintético de hemoaglutinina de virus clonado en bacterias, y se dedujo la secuencia completa del gene del RNA: se notó que el gene consta de 1742 nucleótidos y su RNA mensajero codifica 563 aminoácidos sin interrumpir. Además se observó que hay grandes similitudes entre la secuencia de aminoácidos de virus de IA y el virus de la influenza humana. (78).

Se sabe que existe una correlación entre el poder de anclaje de la hemoaglutinina y el potencial del virus para producir infección a un gran rango de células huésped, con la patogenicidad para pollos (92). Otros autores mencionan que la hemoaglutinina es responsable de la patogenicidad viral (16), siendo los virus más patógenos pertenecientes a los grupos H5 y H7 (31). En los virus de baja patogenicidad, el sitio de rompimiento de la hemoaglutinina contiene una sola arginina mientras que los de alta patogenicidad muestran múltiples residuos de aminoácidos básicos (31, 103). En los virus patógenos los múltiples aminoácidos básicos adicionales están junto al sitio de unión, lo cual permite que la hemoaglutinina sufra un proceso proteolítico por medio de las proteasas de la célula huésped dando así una progenie infecciosa para varios tipos celulares, afectando así su infectividad (74,70). Los virus altamente patógenos poseen hemoaglutininas que fácilmente se unen a células tanto in vivo como in vitro.

Se ha visto que las mutaciones en la hemoaglutinina afectan la transmisibilidad del virus de influenza (45), dichas mutaciones ocurren cuando una porción del segmento del gene del virus de IA que codifica para la hemoaglutinina cambia. Debido a esto, la cadena de polipeptidos contiene un aminoácido diferente y se dobla para formar una molécula de hemoaglutinina. Finalmente tres moléculas de hemoaglutininas se combinan para formar el antígeno final de hemoaglutinina. Gracias a la mutación, esta molécula difiere de la del virus original y puede aumentar la virulencia del microorganismo resultante (113). Los virus apatógenos tienen un sitio de glicosilación en su hemoaglutinina que bloquea la unión de estos virus a las células (103). Al inducir una simple mutación que omita la glicosilación del área de la división, que es responsable del efecto bloqueador, se obtiene una cepa altamente patógena. Un dato importante es que las bacterias que se encuentran como flora normal en las aves producen unas enzimas que pueden modificar la secuencia de aminoácidos de la hemoaglutinina y pueden convertir cepas poco patógenas en cepas altamente patógenas (97).

La neuraminidasa actúa como enzima que rompe el ácido neuramínico dando lugar a la separación del virus con la superficie de los glóbulos rojos, conocido como elusión (88).

Las variaciones en patogenicidad y transmisibilidad del virus de influenza en sus diferentes huéspedes ha causado problema en el diagnóstico, definición y entendimiento de infecciones por este agente en pollos (4). Se menciona que un virus de IA puede adquirir virulencia en dos maneras. Una es que haya intercambio genético entre la cepa avirulenta y otro virus de influenza y la otra es que haya una acumulación de mutaciones de punto. La segunda es más probable ya que al estudiar el RNA con oligonucleótido se observaron solo pequeños cambios al adquirir virulencia. Los virus



avirulentos tiene los genes necesarios para adquirir virulencia (52). Las variables del virus pueden surgir a partir de:

- Mutación de punto
- reordenamiento genético
- partículas defectivas de interferencia
- recombinación del RNA

Todas contribuyen a la evolución del virus. Las mutaciones incluyendo sustituciones, deleciones e inserciones son mecanismos importantes para producir variación entre los virus de influenza (115). Las mutaciones ocurren por errores durante la multiplicación o por la presencia de algunos químicos (113). En un estudio realizado en 1980 con virus de influenza humana tipo A Hong Kong, se vio que la sustitución de un solo aminoácido en cada área puede crear una cepa epidémica, se cree que esto fue lo que sucedió entre los años de 1968 y 1975 (117). Se dice que tanto una hemoaglutinina que se puede anclar, como la nucleoproteína, y posiblemente la conjunción con los genes polimerasa juegan un papel importante en la virulencia, el espectro de huésped, y la especificidad de especie. Este virus puede ganar o perder propiedades específicas rápidamente, sobre todo por mutaciones de supresión que pueden ocurrir durante la adaptación del virus a nuevas condiciones del medio ambiente (93). Se ha visto que los virus avirulentos tienen RNA's de bajo peso molecular, típico de partículas defectivas interferentes, pero estas partículas estaban ausentes en los virus virulentos, indicando que perdieron los RNA's subgenómicos (52). Otra característica de los virus altamente patógenos es que son digeridos por tripsina y proteasas, además que se replican en cultivos celulares sin tripsina, así como in vivo (69,70). Las formas muy virulentas forman placas en cultivos celulares con o sin la adición de tripsina y las formas menos virulentas de este virus solo forman placas en cultivos celulares si hay tripsina; esto es debido a la eficiencia con la cual una hemoaglutinina viral es activada a la fusión competente por un anclaje proteolítico con la célula huésped (73). Por otra parte, se ha visto que la vía de infección es un factor importante en la patogenicidad del virus (4).

Enfocándose más al virus subtipo H5N2 que se encuentra en México, hay autores que estipulan que se presentó debido a dos posibles causas: La primera por una recombinación entre los virus de influenza tipo A presentes en aves silvestres y la segunda por que no se había detectado este virus subtipo H5N2 en aves silvestres. Se cree que el virus se tornó altamente patógeno por una recombinación con un segundo virus de influenza presente en pollos produciéndose una cepa altamente patógena o que mutó y que los virus mutantes fueron seleccionados mediante pasajes en pollos resultando en una forma altamente patógena (113) El virus que entró a México a fines de

1993 era apatógeno, para diciembre de 1994 virus de dos muestras enviadas al National Veterinary Services Laboratory localizado Ames Iowa, Estados Unidos habían cambiado su secuencia de aminoácidos dando secuencias similares a las de los virus Ty/England/50-92/91, considerado uno de los más patógenos, y A/chicken/Pennsylvania/13609/93 y A/chicken/Florida/25717/93. Además los virus procedentes de México crecieron en células fibroblastos de embrión de pollo con ausencia de tripsina, sugiriendo una hemoaglutinina con gran capacidad de anclaje indicando que se trataba de una cepa altamente patógena.

Este virus es termoestable, sensible al éter y cloroformo, además un pH bajo disminuye su infectividad y su capacidad de hemoaglutinar; la formalina al 1% anula su infectividad a las 24 horas (56,88). Otros agentes que disminuyen su infectividad son los detergentes, agentes oxidantes, ácidos diluidos, fenol, iones amonio, y luz ultravioleta (88). Se menciona que hay mayor supervivencia viral con temperaturas bajas y humedad (91).

## PATOGENIA

La transmisión del virus de IA es por contacto directo o indirecto (87). La transmisión directa es a través de aves que están infectadas y eliminan virus por heces y aerosoles (32), y conjuntiva (20). Se reporta que las temperaturas frías y heladas protegen a los virus que se encuentran fuera del huésped (76). Los medios indirectos de transmisión incluyen: cama (32), equipo y personal contaminado (87).

Las aves susceptibles ingieren el virus que tiene como blanco las células del intestino y pulmón. Sin embargo en estudios recientes se ha visto que cepas altamente virulentas producen viremia y en esta fase se puede recuperar virus de diferentes órganos (109). El tropismo hacia los tejidos no está relacionado a la patogenicidad del virus, se ha visto que los virus restringidos a los tractos respiratorio y digestivo producen menos daño que los sistémicos (103). Es importante mencionar que una vez que el virus entra al torrente sanguíneo se disemina a varios órganos, incluyendo el cerebro (113). El período de incubación de esta enfermedad va de unas cuantas horas hasta 2 o 3 días (87).

Una vez que el virus llega a las células blanco, las cuales tienen ácido siálico en su superficie, se adsorbe a los receptores de glicoproteína y se une al sitio de recepción- unión de la hemoaglutinina (115). Varios investigadores han mencionado que una unión eficiente de la hemoaglutinina puede ser responsable de una diseminación rápida del virus en el huésped aviar, quizás aumentando su patogenicidad (74).

El virus entra a la célula por endocitosis que es mediada por receptores (88). Al ser expuesto al pH bajo presente en el endosoma, la hemoaglutinina sufre un cambio conformacional que media la fusión a la membrana (20,115). Cuando llega una hemoaglutinina no anclada a una célula huésped, el virus libera una enzima proteolítica que rompe el punto de ruptura, es aquí donde se va a conectar el péptido de la hemoaglutinina activa, y donde actúa la proteasa de la célula huésped para que el virus tenga infectividad (18). Esto es seguido por la desenvoltura del virus y la liberación de la nucleoproteína en el citoplasma celular. En este momento comienza la síntesis de RNA y proteínas estructurales de los nuevos viriones por medio de gemación (88). La nucleocápside entra al citoplasma de la célula blanco y migra a su núcleo.

La transcripción se realiza mediante anclaje del endonucleasa viral al 5' cap de los RNAs mensajeros celulares, usando esto como transcripción primaria por parte de la transcriptasa viral. Los RNAs mensajeros monocistronicos son producidos y traducidos en hemoaglutinina, neuraminidasa, NP y 3 polimerasas (PB1, PB2, y PA). Los RNAs mensajeros para los genes NS y M sufren divisiones, cada uno dando dos RNAs mensajeros que son traducidos en diferentes marcos de lectura,

dando así las proteínas NS1, NS2, M1, y M2. La hemoaglutinina y la neuraminidasa son glucosiladas en el retículo endoplásmico rugoso, cortadas en el aparato de golgi, y transportadas a la superficie donde quedan en la membrana celular. La hemoaglutinina es anclada por las proteasas de la célula huésped al HA1 y HA2. Estas permanecen unidas por enlaces disulfuro, que es necesario para la producción de virus infecciosos.

Después de la producción y ensamblaje de la proteína viral y RNA, el virus sale de la célula por el plasma celular (20). Las neuraminidasas se encargan de liberar al virus del receptor celular del huésped permitiendo que la progenie viral salga de la célula que los originó, facilitando así la diseminación viral (115). El paso final de la maduración viral es extracelular. La división de HAO en HA1 Y HA2 es debido a las proteasas del hospedador. La hemoaglutinina dividida es relativamente inestable en pH bajos, por lo tanto, como son transmitidos vía oro-fecal la división podría ser después de que el virión excretado entre al nuevo huésped y pasa por su estómago. Las hemoaglutininas de virus altamente virulentos probablemente sean divididas intracelularmente (115).

Se menciona que los virus producidos en pulmón no son infecciosos ya que las bacterias presentes en este (*S. aureus*, *Strep. pneumoniae*, y *H. influenzae*) permiten un bloqueo en la multiplicación viral a través de una actividad proteolítica de la hemoaglutinina. Se cree que virus en el tracto respiratorio favorece el crecimiento de estas bacterias. La combinación del virus con bacterias es mas común que solo la presentación del virus, siendo la proporción 3:1. Las combinaciones mas comunes son con *S. aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* (102). El mecanismo decisivo del virus es su habilidad de producir grandes cantidades de progenie en varios ciclos repetitivos, diseminándose la infección a pulmón antes de que las defensas del huésped se activen. Como se mencionó anteriormente, la hemoaglutinina determina la patogenicidad y quizás así se puede explicar a nivel molecular el efecto sinérgico entre los virus de influenza y las bacterias presentes dando una neumonía fatal (102), además se menciona que las infecciones concurrentes incrementan la patogenicidad viral (20).

## SIGNOS Y LESIONES

El periodo de incubación para esta enfermedad es de 3 a 5 días (16,48), el periodo de difusión es de 3 a 10 días, y la morbilidad puede ir de un 50 a 100%, todo esto dependiendo del tipo de virus (21, 105). Otros autores mencionan que la morbilidad puede ir de 0 al 100%, persistiendo la enfermedad hasta 6 semanas (17). La mortalidad puede ir de 1 a 100% dependiendo de la especie, la virulencia de la cepa y el estado inmune del ave (87); por el contrario, hay autores que mencionan que esta enfermedad no provoca mortalidades altas a menos que se complique con otros agentes (82). Generalmente se presenta un cuadro respiratorio que toma fuerza al momento de combinarse con agentes complicantes (21). El pronóstico para una parvada infectada con un virus altamente patógeno es desfavorable. La presentación clínica va de leve a severa según el grado de patogenicidad del virus (105). También las lesiones varían según la cepa y si hay presencia de bacterias complicantes (20). La variabilidad de las lesiones también puede ser debida a los factores concomitantes (21).

Durante el año de 1994 se observaron problemas respiratorios en aves de postura comerciales, en algunas ocasiones esto iba asociado con caídas de producción y pérdidas económicas para el avicultor. En estos casos se aislaron virus de IA, de bronquitis infecciosa, y otras bacterias complicantes. Las aves presentaron signos respiratorios, con difusión lenta, tardando hasta 28 días en afectar a todas las aves de la caseta. Generalmente se detectaba en aves de producción, incluyendo aves pelechadas, aunque también se ha visto en algunas granjas de crianza. Las pérdidas económicas que sufre el avicultor son:

- disminución de la producción de huevo y carne
- compra de medicamentos para el tratamiento de los problemas respiratorios.

Se han realizado estudios en donde se concluye que se pierde \$0.557 por ave (17).

En el humano los signos de influenza son fiebre, mialgia, exudado nasal y afección respiratoria, eliminando virus y presentando seroconversión (50).

Los signos en pavos son: emaciación (54), deshidratación, (48), hacinamiento, letargia, cabeza cianótica y colgante, y baja la ingesta alimenticia. La mortalidad es alta, y para la segunda semana es casi nula. Se nota una baja en la producción de huevo debido al estrés al que es sometida el ave (14,55,56,75). Además hay mas huevos anormales, baja la fertilidad (56,63) y la incubabilidad del huevo (54). También se ve depresión, baja el consumo de agua, tos, estornudos, plumas erizadas, sinusitis (50), y a veces hasta diarrea verdosa (54). La mortalidad es mayor en parvadas jóvenes (50,77), incluso puede haber una septicemia/toxemia (50). La infección es inmunosupresora y las

pérdidas son por infecciones secundarias, sobre todo en aves confinadas con ambiente de estrés; estas infecciones secundarias pueden ser cólera, coriza, o colibacilosis (77). En general se observa un cuadro respiratorio (112). Las pérdidas económicas son importantes, y hay un mayor deceso en rastro. Se menciona que el curso de la infección es autolimitante, y los brotes pueden ir de subclínico hasta una mortalidad de 31% (50).

Las lesiones en pavos son: inflamación serofibrinosa de los sacos aéreos torácicos y abdominales. En el aparato reproductor los ovarios y oviducto están congestionados (55), este último con infiltración linfocitaria (54). Hay yemas rotas mezcladas con exudado inflamatorio. En el abdomen el peritoneo está inflamando con exudado serofibrinoso (55), el hígado se encuentra congestionado con infiltración linfocitaria (54), con el parénquima amarillento o descolorido, a veces el bazo está blanquecino con puntillito. Se llega a ver exudado fibrinoso en pleura, pericardio, envoltura peritoneal del hígado y otros órganos (48). En el aparato urinario los riñones se encuentran hinchados y los ureteres con uratos. En el aparato respiratorio los pulmones están congestionados (55), hay una traqueítis con exudado que va de seroso a caseoso, y con edema (20). También se puede observar exudado mucofibrinoso en la nasofaringe (48). La piel y músculos se ven congestionados. A veces se llega a observar hemorragias petequiales en la grasa epicárdica y mucosa del proventrículo o por debajo de la cutícula del buche (55,98), y en el aparato digestivo puede una enteritis catarral (54). Hay veces en que todo el organismo del ave está congestionado (18).

En los embriones de pavo se observa la piel roja oscura, hemorragias en la cabeza, músculos congestionados, hígado con coloración rojo oscuro, y decoloración en los órganos internos (55), además les causa la muerte (15).

En el pato no se hay signos (22), y la lesión que se observa es una neumonía leve con infiltración linfocitaria y de macrófagos (22). En otras especies como focas se observa una bronconeumonía necrotizante, con degeneración y descamación del epitelio bronquial (40).

Los signos en pollos son: pollo ahogado al embarque (21), letargia (48), debilidad, plumas crizadas (109), depresión (1,34,48,109), baja la ingesta de agua (34), y anorexia (17,48,109) que causa un aumento de la conversión alimenticia (17). Se puede notar una retracción de la cabeza (16), y esta puede estar cianótica y con edema. Tanto la cabeza como las alas se ven caídas, la conjuntiva palpebral está congestionada y se desvía hacia el cantus interno, a veces esta presenta necrosis (48). Después de unos días de infección se puede observar una blefaroconjuntivitis severa unilateral o bilateral a veces con nódulos blanquecinos y hay lagrimeo espumoso siendo más frecuente en la comisura de los párpados (17). También se puede observar inflamación o edema en las babillas que

se pueden reventar dejando escapar un líquido serosanguinolento (17). Los signos nerviosos incluyen, opistótonos, bradistótonos, incoordinación (21), paresis, temblor, espasmos musculares, ataxia, torticolis, y hasta convulsiones (48,98). La cresta puede estar congestionada o cianótica (16,46,109) y si es una cepa altamente patógena esta llega a tener edema y necrosis (1,109), al igual que las patas y la articulación tibiometatarsal (48). Puede haber úlceras en párpados y cresta (16). También se pueden observar hemorragias en el tarso (18). Generalmente hay deshidratación, vesiculización y necrosis (1). Los signos digestivos incluyen diarrea acuosa (109), o heces como albúmina de huevo, o mucoides con uratos y bilis si el caso es prolongado (48). Otros autores mencionan que la diarrea es blanca (68). Generalmente se perciben sonidos respiratorios (34) como estornudo, estertores traqueales, boqueo, disnea (21,98), grito, y alimento pegado alrededor de fosas nasales. La sinusitis puede ser catarral, fibrinosa, serofibrinosa, mucopurulenta, o caseosa (17,20). La mortalidad puede ir de leve a severa según el tipo de virus, y generalmente es rápida y repentina (1,16). Se puede llegar a ver una baja marcada en la producción de huevo (34) acompañada de una lesión inflamatoria no purulenta en la porción glandular del magnum (17). A veces hay mas huevos rotos o baja su calidad interna (68).

Las lesiones en pollos son: petequias en las serosas, congestión y hemorragias en los tejidos superficiales (16) y órganos (48), y edema subcutáneo de cabeza y cuello. En casos prolongados puede haber vesiculación en las apéndices craneales (48). En el aparato digestivo se nota: peritonitis que puede ir de catarral a fibrinosa (17,20), pancreatitis difusa necrotizante de leve a severa, y manchas amarillas y rojas en el páncreas (20). Puede haber petequias en la grasa abdominal y mucosa de proventriculo, y edema en este último (1,46). La molleja también presenta lesiones (48). El intestino puede tener una hiperemia (48) y enteritis de diferentes grados. El hígado puede tener necrosis focal y uratos (46). El sistema músculo-esquelético presenta miositis subaguda necrotizante (20) de moderada a severa siendo mayor en los músculos oculares y de las patas. El músculo pectoral puede estar mas pequeño (1), y las uniones costocondrales se pueden apreciar alargadas (34) con hemorragias en los espacios intercostales (18). También se puede llegar a ver atrofia del timo y de la bolsa de Fabricio (1). Esta enfermedad causa necrosis del bazo, dando una rápida depleción de linfocitos (74) y una vasculitis del mismo (46), además se ve pequeño, obscuro y con hemorragias (18). Se puede observar una necrosis severa de linfocitos en varios tejidos linfoides (109). En el aparato circulatorio se observa una miocarditis (1,109), petequias en pericardio (34), epicardio, endocardio (48), y uratos en corazón (46). El pericardio presenta líquido amarillento que al ser expuesto al oxígeno, se gelatiniza (48). En el aparato reproductor se puede ver postura abdominal

(17). óvulos rotos y atrésicos con hemorragias (34,46). En el aparato respiratorio se observan hemorragias en tráquea (21), traqueitis catarral (34) y neumonía (17,18). El pulmón puede estar congestionado (34), con necrosis linfocitaria, infiltración de heterófilos y células mononucleares al tejido peribronquial con extensión a los capilares aéreos contiguos (109), y necrosis de los nódulos linfoides presentes en la lámina propia de los bronquiolos. Los sacos aéreos se ven inflamados (17,34,98) con exudado que vá de fibrinoso a caseoso (20). Puede llegar a haber edema pulmonar que produce consolidación (48). El aparato urinario presenta riñones agrandados, acumulación de uratos en riñón y ureteres (34,46), y necrosis tubular aguda en riñones (46).

A la histopatología se puede observar en el sistema nervioso una encefalitis no supurativa difusa de moderada a severa (16,109); en médula y cerebro focos necróticos discretos, infiltración linfocitaria vascular y perivascular, satelitosis, degeneración neuronal (48), focos gliales, y proliferación vascular (20). Otras lesiones incluyen necrosis en varios órganos, nefritis, hepatitis, cambios grasos en el tejido reticular, agregaciones linfocíticas en órganos linfoides, (48) además de hiperplasia del tejido linfóide (21), y focos de infiltración perivascular linfóide en miocardio, bazo, pulmón, patas, hígado y riñón (20).

Las lesiones en embrión de pollo incluyen congestión, hemorragias en médula, músculo esquelético, cerebro, miocardio, y molleja (48).

Cabe mencionar que algunas parvadas han resultado positivas a la serología o al aislamiento viral sin presentar signos clínicos o alteraciones en la producción o calidad del huevo (17).



## INMUNIDAD

La inmunidad contra la IA se lleva a cabo por respuestas humorales y celulares. Las proteínas virales de mayor importancia son las hemoaglutininas que inducen la producción de anticuerpos neutralizantes fácilmente detectables (31,36,43,78). La nucleoproteína también es importante ya que induce la respuesta celular estimulando la formación de células T citotóxicas. Ambas respuestas son importantes en la protección inicial y para la recuperación de la enfermedad (36). Algunos autores mencionan que tanto las hemoaglutininas como las neuraminidasas son responsables de la inducción de la producción de anticuerpos contra la infección (51). Se ha visto que el virus evade la neutralización por parte del huésped a través de mutaciones espontáneas, dando cambios en los aminoácidos de las hemoaglutininas (78).

En 1988 se realizó un estudio para determinar y caracterizar los epitopes neutralizantes más importantes del virus de IA tipo A H5. Se preparó un panel de anticuerpos monoclonales específicos a la hemoaglutinina H5 de un virus altamente patógeno de IA A/Turkey Ontario/7732/66 (H5N9). En este estudio se vio que hay 5 epitopes neutralizantes distintos en el núcleo de la H5 de este virus. Los virus que cambiaron en cuatro de las cinco epitopes, al ser analizados en vivo para determinar su virulencia en pollos, no modificaron su virulencia, siendo igual de virulentos que los tipos silvestres. En contraste, los virus que mutaron 5 epitopes son atenuados. Se observó que las mutaciones dentro de los epitopes neutralizantes pueden alterar la virulencia del virus, al grado de originar cepas altamente patógenas (74). En otros estudios realizados con anticuerpos monoclonales, también se notó que la hemoaglutinina del virus H5 muestra 5 epitopes definidos. Se sabe que la inmunización en pollos contra IA inducen anticuerpos hacia 3 epitopes altamente inmunogénicos. Los anticuerpos producidos contra los otros 2 epitopes y la nucleoproteína son de baja avididad y reducida afinidad (31).

El virus de IA tiene alta variación antigénica, por lo tanto la resistencia creada durante la infección es mínima (10).

Cabe mencionar que la respuesta inmune muchas veces es comprometida ya que algunos virus infectan a los macrófagos y linfocitos. El efecto sobre estas células puede contribuir a una necrosis linfóide que muchas veces es vista en estudios histopatológicos. Se cree que estos virus infectan a los macrófagos y éstos pueden afectar la viabilidad de los linfocitos, ya que al ser expuestos los macrófagos al virus, secretan sustancias tóxicas como radicales de oxígeno, contenido lisosomal, o factores solubles como puede ser el factor de necrosis tumoral. Es por esto que la necrosis linfóide puede ser debida a la secreción de estos factores además de la replicación viral (110). Otro motivo

por lo que la respuesta inmune por parte del huésped puede ser comprometida es debido a la linfopenia que causan algunos virus, especialmente durante las etapas tempranas de la infección (109).

## DIAGNOSTICO

El diagnóstico de la IA puede ser mediante diferentes pruebas. Un diagnóstico oportuno y correcto es una de las mejores formas de combatir esta enfermedad. Se deben realizar necropsias de rutina, tomando muestras de sangre y de órganos que se encuentren involucrados en la enfermedad (67). El virus puede ser recuperado de tráquea y cloaca de aves vivas y muertas ya que se replica en estos órganos. También se puede mandar bazo e intestino, en Europa adicionalmente mandan encéfalo e hígado. Los órganos se mandan en caldo infusión cerebro corazón (69) y las muestras que se toman con hisopos se ponen en medio de transporte (1 a 2 ml) con antibiótico. Los órganos se deben enviar en tubos de plástico o bolsas estériles (para los virus altamente patógenos) a 4C (20). El suero que se colecta debe ser de aves tanto en fase aguda como en fase convaleciente (14 a 28 días después de inicio). El suero debe mantenerse a -20C antes de ser usado. Los inhibidores no específicos pueden interferir con el diagnóstico, debido a esto el suero debe ser tratado para reducir o destruir la actividad inespecífica, sin embargo hay que tener en mente que estos tratamientos puede bajar los niveles de anticuerpos específicos. Es recomendable usar glóbulos rojos de la misma especie animal de la cual proviene el suero problema para no confundir títulos bajos de anticuerpos, ya que los sueros de pavos y gansos aglutinan los glóbulos rojos de pollo aun sin tener el virus (20). En México se requiere que las muestras vayan en refrigeración, y los hisopos cloacales en caldo infusión cerebro corazón y refrigerados. Las muestras deben ir acompañadas de:

- historia clínica
- datos de la explotación
- lesiones macroscópicas
- información epidemiológica

Es bueno recordar que no es posible llegar a un diagnóstico veráz solo a través del cuadro clínico (18), por esto el diagnóstico debe ser mediante:

- aislamiento e identificación del agente y/o
- demostración de anticuerpos específicos (87).

Un método directo para el diagnóstico es la observación del Orthomyxovirus a través del microscopio electrónico (98).

El diagnóstico a través de la histopatología no es selectivo. Aquí los antígenos virales son demostrados mediante tinción de inmunoperoxidasa con anticuerpos monoclonales para la nucleoproteína viral. Se toman muestras a partir de los aparatos respiratorio y digestivo. Básicamente

lo que se busca son las lesiones descritas en el capítulo de signos y lesiones. Algo importante que considerar al utilizar este método para el diagnóstico es que las lesiones de esta enfermedad no son patognomónicas, y se podría llegar a confundir con otras enfermedades.

La prueba de antígeno soluble, anticuerpo fluorescente es una prueba indirecta de anticuerpos fluorescentes pero con una matriz artificial de discos de acetato de celulosa los cuales son usados como sustrato para el antígeno. Los resultados son revisados y grabados por un fluorómetro. El antígeno para esta prueba se obtiene de partículas de virus concentrado y detergente interrumpido, absorbidos en discos de acetato de celulosa. Se obtiene suero anti-influenza de aves como faisanes y patos inoculados con algún tipo de virus de influenza tipo A. El complejo antígeno-anticuerpo se detecta por medio de una tinción específica con isotiocianato de fluoresceína monovalente o polivalente de inmunoglobulinas anti-aviarias conjugadas en conejo. Esta es una prueba que puede ser adaptada para pruebas a mayor escala, además es sensible ya que se mide con fluorómetro, eliminando así la subjetividad de la persona que la lee. La matriz artificial puede reducir el nivel de fluorescencia no específica, sin embargo, no se sabe que efecto tiene el detergente que se usa sobre la hemoaglutinina y la neuraminidasa, si estas quedan o no activas y si afecta la detección del anticuerpo. Un factor a considerar es que esta prueba tiene baja especificidad aunque es muy sensible y detecta todas las interacciones antígeno-anticuerpo (10).

Otro método de diagnóstico es el aislamiento viral en embrión de pollo (20,63). Este virus crece en embriones de pollo de 9 a 11 días de edad. El embrión de pollo es inoculado vía amnioalantoidea con 0.1 ml de inóculo (20) que es hecho a partir de órganos sospechosos como tráquea, pulmón, sacos aéreos, exudado de senos y cometas, hígado, bazo o hisopos cloacales (87). A las 72 horas de incubación se colecta el fluido alantoideo y se ve si este produce hemoaglutinación en glóbulos rojos de pollo. Si no hay hemoaglutinación, se realiza un segundo pase y se repite el procedimiento (20). El virus puede o no producir muerte embrionaria entre 2 y 3 días post inoculación, pero si es positivo, desde las 48 horas post inoculación se puede encontrar actividad hemoaglutinante en el líquido alantoideo. La cantidad mínima de virus en líquido alantoideo para dar hemoaglutinación positiva es de  $10^5$  a  $10^6$  D<sub>50</sub> 50%/ml (87). La muestra se da como negativa si no hay muerte embrionaria y no aglutina glóbulos rojos. Si hay muerte embrionaria en el primer pase y el líquido alantoideo no hemoaglutina, se diluye este 1:10 en caldo y se reinocula dando un segundo pase. Si en este segundo pase no hemoaglutina y hay o no muerte embrionaria, la muestra se da como negativa (71).

El virus aislado en México produjo muerte embrionaria entre 2 y 5 días post inoculación. Los líquidos amnióticos aglutinaron eritrocitos de pollo y humanos, produciendo elusión solo en los de

humano. La hemoaglutinación se inhibe con antisueros de referencia H5N2 producido por la CPA (30).

Para la prueba de inmunodifusión se deben mandar las muestras en congelación o glicerina con pH neutro. Esta prueba detecta los antígenos de IA mediante un antisuero marcado con fluoresceína, además es altamente específica y rápida (12).

El monitoreo serológico de pollos y pavos para IA es esencial para prevenir la introducción y diseminación de los virus de influenza en aves susceptibles (62). Los anticuerpos se detectan de 7 a 10 días post infección (20). Para la interpretación de los resultados serológicos, es necesario considerar la biodiversidad del virus de IA y la posibilidad que cepas de alta patogenicidad estimulen niveles de anticuerpos superiores a las cepas de baja patogenicidad (58). Cabe mencionar que el nivel de anticuerpos que se detecta en yema es similar al que se detecta en sangre (72). Para el monitoreo serológico se pueden utilizar varias pruebas como las siguientes: El método de inhibición de la hemoaglutinación (10,20,40,45,59,63,68,82,87,105). Debido a que el virus de IA hemoaglutina, los anticuerpos contra este virus inhiben esta propiedad de hemoaglutinación al bloquear los lugares de unión (104). Esta prueba detecta anticuerpos contra la hemoaglutinina (58). La muestra debe de ser revisada para ver que no se trate de Enfermedad de Newcastle. Si la muestra sale negativa a Enfermedad de Newcastle, se procede a utilizar antisuero contra IA tipo A no patógeno (20). La inhibición de la hemoaglutinación mide anticuerpos los cuales duran hasta 7 meses después de la infección. Los anticuerpos aumentan si hay una baja en la temperatura ambiental debido al estrés que causa en el ave. Títulos mayores a 1:10 son considerados positivos. Esta prueba requiere de 4 UHA de antígeno. En pavos los títulos van de 10 a 40. Los títulos varían según las condiciones ambientales, la vía de exposición, y la dosis del virus. Esta prueba puede dar falsos positivos (44). En la prueba de inhibición de la hemoaglutinación los resultados de 1 a 4 y 1 a 8 no son necesariamente positivos, y de 1 a 16 ya se consideran positivos. Se utilizan 3 controles positivos en todas las placas (69).

En México la prueba principal para el diagnóstico es la inhibición de la hemoaglutinación, además puede utilizarse la precipitación en agar (59,87,105). Para la precipitación en agar, se cortan pozos de 5 mm de diámetro separados entre sí por 1 cm en una caja de petri que contenga una capa de agar como puede ser Tripticasa Soya Agar (TSA). Se llena un pozo con antígeno soluble y el otro con antisuero. Los reactivos se difunden en forma radial, posteriormente se establece un gradiente de concentración circular para cada reactivo y estos terminan por sobreponerse. Las proporciones óptimas de la aparición de precipitación se producen en una zona de los gradientes supuestos, en esta

región aparece una línea opaca de precipitado (104). En un estudio prepararon el antígeno a partir de membranas corioalantoidés de huevos fértiles inoculados con virus de IA. La membrana se homogeneizó, congeló, y descongeló 3 veces. Después se inactivó 1 ml de antígeno con 0.1% de betapropiolactona. El suero control positivo se obtuvo al inocular aves vía endovenoso con virus. La prueba se lleva a cabo usando 0.9% de solución de agarosa preparada en solución salina fosfatada neutra con 8% de cloruro de sodio. Se vierten 17 ml de agar en cajas de petri de 100 X 15, y se perfora el agar 7 veces, una en el centro y seis alrededor. En esta prueba se puede usar suero o yema, si se usa esta última, se diluye con un volumen igual de PBS, agitando vigorosamente de 30 a 40 segundos y centrifugando a 2,500 r.p.m. durante 30 minutos. El sobrenadante amarillo es el que se utiliza para la prueba. La caja se cierra y es incubada a temperatura ambiente durante un mínimo de 24 horas. Los controles positivos se observaron con una línea de precipitado (71). Se menciona que esta prueba es adaptable a nivel campo para los estudio serológicos (47). En un estudio para revisar serológicamente a aves de ornato introducidas a Estados Unidos utilizaron la prueba de inmunodifusión para la detección de las hemoaglutininas del virus de IA (93). La precipitación en agar detecta anticuerpos contra la nucleoproteína viral que está presente en todos los virus de IA sin importar el subtipo (59). La precipitación en agar es una prueba específica de tipo (62), simple, económica, requiere poco equipo, reactivos y conocimiento, y nos permite detectar sueros positivos en parvadas sin ser afectada por su tamaño y con un buen grado de confianza (62). Sin embargo, otros investigadores mencionan que es de baja sensibilidad sobretodo con cepas de baja patogenicidad. También se dice que esta prueba a veces no detecta infecciones tempranas ni de naturaleza transitoria (58). En un estudio con aves infectadas en forma natural, la precipitación en agar detectó anticuerpos a los 15 días post infección, esto pudo ser afectado por la dosis y vía de inoculación. Otros estudios mostraron que a menor dosis inoculada, la sensibilidad de la precipitación en agar es menor, lo cual puede pasar a nivel campo (105). Esta prueba requiere altas concentraciones de antígeno y anticuerpo, y da un estimado erróneo del título, además, los niveles de anticuerpo como antígeno son desconocidos, la precipitación en agar es considera cualitativa (10).

Otros métodos de diagnóstico son: la inmunodifusión doble, hemólisis radial simple, ELISA, neutralización de virus, Inmunofluorescencia, tinción de inmunoperoxidasa, y pruebas de genes radiomarcados para hibridación in situ localizando células involucradas en la replicación virales en los tejidos de aves infectadas (20). La fijación de complemento no es buena debido a la gran actividad anticomplementaria además en las aves la fijación de complemento es muy pobre (10).

En un estudio para comparar diferentes métodos de diagnóstico, las pruebas de inhibición de la hemoaglutinación y ELISA detectaron anticuerpos homólogos desde el 6 al 157 día después de infección. La prueba de inmunodifusión en agar detectó anticuerpos desde el día 11 hasta el 157. Se reporta que se han demostrado una gran cantidad de reacciones cruzadas de subtipo mediante la prueba de ELISA, lo cual indica que esta prueba permite la detección de anticuerpos específicos y puede ser comparada con la de precipitación en agar. La prueba de ELISA es más sensible, pero requiere de más equipo, además de estandarización y purificación de los reactivos utilizados (62). En otro estudio, la prueba de ELISA detectó anticuerpos específicos contra IA desde los 8 días postinoculación, mientras que la aglutinación en placa salió negativa por 35 días post inoculación y la prueba de inhibición de la hemoaglutinación fue positiva a partir del día 21 post inoculación detectando niveles bajos de anticuerpos. Estas aves no presentaron signos obvios de enfermedad sin embargo la prueba de ELISA detectó los anticuerpos (96). Algunos investigadores mencionan que las pruebas de hemoaglutinación e inmunodifusión tienen la misma sensibilidad (69).

La tipificación del virus se logra al determinar el subtipo antigénico de los antígenos de superficie. La hemoaglutinina se identifica con la prueba de inhibición de la hemoaglutinación usando un panel de antiseros preparado contra los 13 diferentes subtipos de hemoaglutininas. Esto es facilitado al usar antisero contra la hemoaglutinina aislada o contra virus recombinados con neuroaminidasas no importantes, lo que evita la inhibición sérica debido a anticuerpos contra las neuraminidasas. Los virus con hemoaglutininas nuevas no serían identificados en este procedimiento. La neuraminidasa se subtipifica mediante la prueba de inhibición de la neuraminidasa con antiseros contra las 9 neuraminidasas conocidas (20). Una opción para la prueba de inhibición de la neuraminidasa es la micro inhibición de la neuraminidasa, que menor cantidad de reactivos y se pueden trabajar más pruebas. Cabe mencionar que es menos sensible que la macro inhibición de la neuraminidasa la cual es recomendada por la Organización Mundial de la Salud, sin embargo es más rápida. Este método es menos sensible si hay mezclas de subtipos del virus (111).

También se puede clasificar este virus mediante pruebas de hibridación de RNA-DNA, usando genomas de RNA de virus aislados de diferentes cepas (42).

La patogenicidad del virus puede ser determinada inoculando pollos vivos. Se prepara una dilución 1:10 de fluido alantoideo positivo a influenza y se inocula 0.2 ml al saco aéreo toácico posterior (también se pueden usar otras vías y formas de inoculación) de ocho aves susceptibles a influenza de 4 a 8 semanas de vida. Los pollos inoculados se observan por 8 días. Estos pollos se guardan en cajas de aislamiento de plástico y solo se abre la puerta para sacar a las aves muertas. Se realizan

necropsias a las aves muertas para observar las lesiones. Si seis o más pollos mueren y tiene las lesiones características de IA, el virus es clasificado como de alta patogenicidad, si mueren de 1 a 5 aves se le considera patógeno, y si no hay signos clínicos se le considera no patógeno (71).

Otro método para medir la patogenicidad es la formación de placas en cultivos celulares. Para esto se utilizan cultivos primarios en monocapa de fibroblastos de embrión de pollo de 11 días de edad y se cultivan a 37 C con 5% de CO<sub>2</sub> y humedad, en cajas de petri. Después se lavan para quitar el suero residual y se inoculan con 0.2 ml de dilución de virus. Se incuban por 45 a 60 minutos, y se les sobrepone 5 ml de medio mínimo esencial Eagle con 1% de Bactoagar. Después son incubadas a 37C por 48 horas y se agrega el medio anterior con 0.004% de rojo neutral y 1% de Bactoagar, finalmente se cuentan las placas después de 24 a 48 horas de incubación a 37C (92). Las cepas muy virulentas forman placas en cultivos celulares sin tripsina (74). El virus visto en México se replica en cultivos celulares Vero, Ndbk y en fibroblastos de embrión de pollo produciendo efecto citopático después de 72 horas (30).

El ensayo de radioinmunoprecipitación también es utilizado para medir la patogenicidad, se radio marca la proteína viral y se inocula un cultivo celular de monocapa de Madin-Darby de riñón canino con virus en presencia de 0.1 mCi/ml 35 S-metionina y 1 µg/ml de tripsina. Las células infectadas con virus son incubadas por 18 a 24 hs. a 37C, y luego son cosechadas. La hemoaglutinina se precipita con anticuerpos monoclonales dirigidos contra el tipo de hemoaglutinina presente. La hemoaglutinina anclada o no anclada es detectada por medio de autoradiografía (33).

El tiempo que tarda en morir el embrión inoculado con el virus de pollo también nos da el grado de patogenicidad del virus. En esta técnica los embriones son inoculados con dilución de virus 10<sup>-1</sup> y 10<sup>-5</sup> hasta 10<sup>-8</sup>, incubados a 35C y ovoscopiados dos veces al día por 8 días. Después de 8 días, se cosecha líquido alantoideo de los embriones sobrevivientes y se revisa la actividad hemoaglutinante (33).

Para ver la patogenicidad de cualquier virus de IA es recomendable utilizar dos de estas pruebas para llegar a un diagnóstico (33).

Un virus apatógeno no produce signos clínicos ni mortalidad, no se aísla fácilmente de heces, no se transmite a aves centinelas, y da respuesta inmune humoral en el 75% de las aves inoculadas con títulos de 1:10 a 1:80 (30).

Un virus patógeno produce signos clínicos, se aísla fácilmente de heces entre 2 y 10 días post inoculación, en aves recuperadas se encuentran niveles elevados de anticuerpos mayores a 1:1280, se



aísla de encéfalo de aves muertas, pierde su capacidad hemoaglutinante en congelación y descongelación sucesiva, y la dosis letal en pollos de 4 semanas es  $10.5^{-7}$  en 1 ml (30).

El diagnóstico diferencial se hace con: enfermedad de Newcastle, micoplasmosis, cólera aviar, y clamidiosis (87), reacciones postvacunales, contaminación por polvo, irritación por amoníaco (79), paramixovirus, y erisipela (97). Los casos en donde se ha podido confirmar por medio del laboratorio que se trata de un virus de IA de baja patogenicidad generalmente semejan cuadros clínicos causados por coriza infecciosa o pastereosis. En la mayoría de casos se también se recuperan *E. coli*, *Haemophilus paragallinarum*, *Pasteurella spp* y *M. synoviae*. Además se observan buenos títulos vacunales contra enfermedad de Newcastle y bronquitis infecciosa (17).

## TRATAMIENTO

El tratamiento básicamente se enfoca en controlar las infecciones secundarias causadas por bacterias mediante antibióticos de amplio espectro. Sin embargo se han hecho estudios con diferentes quimioterapéuticos que parecen minimizar los efectos de esta enfermedad.

La amantidina es un medicamento aprobado por la Administración de los Estados Unidos para el alimento y las drogas (FDA) para el tratamiento de influenza en humanos. Además, ha sido utilizado en el tratamiento contra influenza en otras especies animales como equinos, codornices y pavos. En un estudio realizado en Estados Unidos, se dió este fármaco a pollos de una explotación. Se vió que si se daba el tratamiento antes de que las aves fueran expuestas al virus, tardaban en enfermarse y la mortalidad era menor que en las aves no tratadas. Por el contrario, si las aves ya estaban infectadas a la hora de ser tratadas, el virus se tornaba resistente al medicamento y la enfermedad seguía su curso. Se concluyó que las aves no deben ser tratadas con amantidina si ya se encuentran infectadas, pero parvadas que aun no están infectadas les puede ser útil el uso de este fármaco (14).

En otro estudio se dió a un grupo de aves amantidina y rimantadina en su agua de bebida. La rimantadina al igual que la amantidina, es usada en el tratamiento de humanos con influenza. Estos fármacos dieron un efecto profiláctico y terapéutico, sin embargo se vió que se crearon virus más resistentes a estos dos fármacos, que infectaron a pollos causando mortalidad. Al aplicarse simultáneamente la vacuna a partir de un virus subtipo H5N2 inactivada con amantidina, no se crearon virus resistentes, dando buena protección. Para la creación de esta vacuna se utilizó virus proveniente de aves silvestres, y que no causara enfermedad en pollos. La vacuna fue inactivada con B-propiolactona y estandarizada con difusión radial sencilla. Se vió que esta quimioterapia no detuvo la diseminación de virus a través de las aves infectadas. Los resultados de este experimento demostraron que una vez que aparece un brote de influenza A altamente patógena, el uso de una vacuna mas amantidina es una opción viable, sobretodo en condiciones donde la erradicación no es operable. Se cree que la amantidina inhibe el virus a través de la interferencia con un estado temprano de crecimiento viral, descubriendo e inhibiendo la transcripción por la polimerasa de las partículas vírales infectantes. Es posible que la amantidina inhiba la replicación al aumentar el pH del endosoma dando un cambio conformacional en la hemaglutinina que es necesaria para la fusión a la célula huésped. Por otro lado se ha asociado la resistencia con una proteína matriz que puede ser separada independiente a la hemaglutinina y neuraminidasa indicando que se necesitan mas estudios sobre el mecanismo de acción de este fármaco (116).

Algo curioso que se notó es que los virus que eran resistentes a la amantidina no podían competir con cepas de campo. Cuando se expusieron aves a cepas de campo, a cepas altamente patógenas, medianamente patógenas, y de baja patogenicidad resistentes a la amantidina, el virus no pudo dominar al competir con las cepas de campo (114).

En México, básicamente se ha tratado contra infecciones por *Mycoplasma*, e infecciones bacterianas complicantes como *Haemophilus*, *Pasteurella*, *E. coli*, y enfermedad respiratoria crónica complicada. Se reportó un caso donde se revacunó con virus activo de bronquitis infecciosa y se detuvo el brote, evitando la caída de postura en las casetas vacunadas que también habían sido desafiadas con un virus de IA (17).

## CONTROL

La IA es un problema internacional y su solución requiere esfuerzo y cooperación internacional (20). Desde que fue fundada la Organización Mundial de la Salud en 1948, esta cuenta con un programa de control de influenza. Su programa incluye:

- Monitoreo de influenza mediante investigación epidemiológica, caracterización del virus y recomendaciones sobre la composición de vacunas de influenza inactivadas.
- Creación de la vacuna para humanos (9).

La clave para prevenir la influenza es cuestión de higiene y sentido común (108). Es importante recordar que es más difícil el control cuando circulan virus de diferente patogenicidad, y cuando hay diferentes tipos de huéspedes bajo diferentes condiciones (29).

Según las recomendaciones del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), el control debe basarse en:

- Aislamiento y detección temprana del brote
- Eliminación de parvadas afectadas sin propagación del virus
- Bioseguridad
- Vigilancia adecuada

La industria y el estado deben trabajar juntos para proporcionar el financiamiento necesario para llevar a cabo el programa de control. El éxito de un programa depende del descubrimiento oportuno de la enfermedad y de su reporte. El período más crítico es cuando la enfermedad entra silenciosamente hasta que es descubierta y confirmada, una vez que pasa esto, se implementa el plan de control. Debe suponerse que esta enfermedad está presente en cualquier lugar, y pueden brotar en cualquier momento por este motivo se requiere un esfuerzo continuo. El éxito del plan de acción dependerá de:

- El tiempo de reacción cuando por primera vez se sospecha de una enfermedad.
- Disposición del personal, números telefónicos, procedimientos a seguir y material para poder comenzar a trabajar.
- Información de inventario para poder establecer una cuarentena industrial
- Entendimiento de la dinámica de la industria avícola, área de carga y mercado.

Para prevenir la introducción y propagación de esta enfermedad se necesita desarrollar un plan de emergencia en cada estado con énfasis en planes de contingencia para prevenir la introducción de la IA. Solo se deben mover aquellas aves que han sido determinadas como libres de enfermedad. Es

importante la planeación a largo plazo, los avicultores y médicos veterinarios zootecnistas del área del brote deben establecer contacto con la agencia o autoridades apropiadas para vigilar el progreso en el control de la enfermedad.

Se debe tener control de las personas que entran y salen de la granja, por esto es bueno cerrar con llave las casetas y mantener una bitácora de entradas y salidas del personal (13). El equipo y material no debe salir de la granja ni ir de granja en granja, además de ser limpiado con detergente (32). También se debe tener higiene en los vehículos que entran a la granja (35), lavar y asperjarlos al entrar a la granja. Al controlar el movimiento de gente y equipo se previene la contaminación (32), no se deben permitir la entrada de visitas innecesarias o no autorizadas y a la vez, no se deben realizar visitas innecesarias a otras granjas (32). Gran parte del contagio entre parvadas es por medio de heces, por eso es importante evitar la contaminación, y controlar el movimiento de gente y equipo. También es conveniente aislar el depósito de aves muertas y controlar el tránsito en esta área (32).

Se debe dar entrenamiento a los empleados de la granja sobre medidas de biosseguridad. Se les debe proporcionar botas resistentes (13), y baño (35) promoviendo que lo usen. Se les debe educar en que no hagan visitas a otras granjas. Es importante exigir a los trabajadores de las granjas no tener aves en sus casas.

Se debe de proveer un pediluvio en cada entrada, y cambiarle desinfectante diariamente (13).

Debe llevarse buen control de las vacunas para enfermedades respiratorias, revisando su origen, título, lote y número de aplicaciones (80).

Otro punto crítico es el control de vectores. Se debe implementar un programa de control efectivo de roedores y moscas (13), ya que estos pueden llegar a diseminar el virus.

Hay que tener precaución al recibir pollitos o al sacar aves de la granja. Al retiro del huevo se debe tomar medidas de control e higiene adecuadas (13). También es recomendable evitar el traslado de aves vivas o exigir que lo hagan con el certificado sanitario (80).

Otro punto que se debe tener en mente es que las aves recientemente adquiridas deben ser aisladas y observadas de 4 a 6 semanas hasta determinar que están libres de enfermedad (57).

La detección temprana de parvadas infectadas es muy importante para el control de esta enfermedad. Se debe decidir con anticipación que hacer con estas parvadas infectadas. Se sugiere la depoblación completa de la granja, así como su limpieza y desinfección. Además se recomienda dejar las instalaciones vacías de 3 a 4 semanas después de la limpieza y desinfección. Es recomendable la utilización de lanza llamas después de desinfectar (97). También se recomienda repoblar estas granjas con aves centinelas susceptibles (13). El Departamento de Agricultura de

Estados Unidos recomienda mantener limpio alrededor de las casetas, libre de maleza, u objetos que podrían actuar como fomites. Se debe buscar que las granjas estén en áreas biológicamente seguras y lejos de rastros, incubadoras, plantas de alimento, caminos públicos, y áreas que atraen aves acuáticas tanto salvajes como domésticas.

Es importante cuarentenar áreas o granjas endémicas (67). Además se debe de controlar la movilización de aves seropositivas (21). Las aves muertas que van a los laboratorios de diagnóstico deben de ir en bolsos de plástico (32). Es necesario llevar a cabo el diagnóstico diferencial de las enfermedades respiratorias, así como tener seguimientos serológicos de la 4a y 7a semana de edad o cada mes. También se debe de procurar utilizar un solo laboratorio de diagnóstico (81).

Se debe tratar de concientizar al avicultor del peligro de la enfermedad. Esto se puede lograr a través de trípticos técnicos así como videocasetes sobre medidas de bioseguridad (85). Otros autores también mencionan que la educación, y el reportar son buenas medidas de control. Además de esto se debe promover el aislamiento voluntario, y el retener a las parvadas infectadas hasta que pasa la enfermedad cuando ya no eliminan virus, siendo esto 3 o 4 semanas después del inicio del brote. También es importante el monitoreo en los rastros (32).

Otra medida efectiva para el control de esta enfermedad es el no permitir el contacto de aves silvestres con las aves de la granja (67,121). Se deben tomar las medidas de bioseguridad adecuadas para evitar que se contagien los pollos de los patos (73). No se debe dejar alimento regado ni tener depósitos de agua al alcance de aves silvestres. También se debe evitar la entrada de otros animales como perros y gatos que pudieran llegar a diseminar el virus (81).

Es importante recordar que al visitar las granjas, uno debe ir de las aves jóvenes a las adultas y de las sanas a las enfermas. Además es recomendable tener granjas con edades únicas y utilizar el método todo dentro todo fuera (81).

Es recomendable abrir un lapso de tiempo entre cada parvada una vez que las instalaciones son lavadas y desinfectadas. Se recomienda dejar la caseta vacía un mínimo de 72 horas antes de recibir la siguiente parvada (80).

Se menciona que también es bueno sacar el pollo en edades más tempranas ya que a mayor edad hay mayor riesgo de contagiarse y por ende hay mayores posibilidades de pérdidas (80).

Se debe de evitar la alimentación de cerdos con pollos muertos debido a la posibilidad de diseminación de este virus por medio de estas especies (60).

Es necesario considerar la posibilidad de difusión de este virus por aire, especialmente en manejo que generan polvo (13). Por eso el manejo debe ser de manera ordenada y con limpieza, evitando el estrés para las aves.

La mortalidad debe ser incinerada, enterrada o hecha composta dentro de la granja (80). La composta de la mortalidad es buena para la inactivación de este virus ya que esta alcanza altas temperaturas (91). En documentos emitidos por el Estado de Morelos se da como otras opciones para desechar la mortalidad: cocción, o embolsarla y trasportarla a un lugar donde se inactíve el virus. Se debe evitar alimentar otros animales con la mortalidad o al menos coserla o tratarla para garantizar la eliminación del virus. Las bolsas donde se mete el desperdicio deben ser desinfectadas por dentro y por fuera y conforme se van llenando se van rociando con desinfectante. La cama debe ser eliminada adecuadamente. Esto puede ser mediante entierro, descomposición en bolsas de plástico gruesas alejadas de las casetas o difundíendola en el campo lejos de casetas y vecinos procurando arar inmediatamente después de dejarla.

Este virus se inactiva con bajas concentraciones de detergente, altas temperaturas, y luz solar. El virus también es inactivado con formalina, cuaternarios de amonio, yodo y cloro (103). Otros agentes que lo inactivan son: betapropiolactona, agentes oxidantes, desinfectantes ácidos como los ácidos orgánicos naturales, éter, fenoles, y halógenos. Se recomienda poner desinfectantes con poder viricida en el agua de cisternas y tinacos (97). Otras referencias citan que este virus es sensible a ácidos diluidos, hidroxylamina, condiciones no isotónicas, pH extremos y resequedad (20).

Es importante que el agua de bebida sea potable (81).

El control de mascotas que entran a través de las aduanas también debe de ser considerado. Un objetivo principal en Estados Unidos es cuarentenar aves importadas para prevenir la introducción de virus que pueden ser problemáticos para las aves domésticas del país (93). En Estados Unidos la cuarentena dura 30 días y se toman muestras de estas aves para aislamiento viral. Si salen positivos a IA en estas pruebas, se les niega la entrada (70). Esta cuarentena se realiza en instalaciones del gobierno o aprobadas por este (69).

Un programa de monitoreo debe incluir tanto aves comerciales como aves no comerciales. Cualquier aves sospechosa debe ser cuarentenada hasta que se realice una buena investigación. En las aves de traspatio es mas difícil detectar un brote ya que es raro que el dueño mande muestras para diagnóstico. Es importante que no salga ninguna ave o huevo proveniente de parvadas infectadas hasta que ya no se recupere virus ni de las aves ni de la granja. El área de cuarentena debe incluir el área donde están las parvadas afectadas y una área libre amortiguadora (108).

El huevo debe ser enviado a procesamiento o a la incubadora en cajas. Si este proviene de parvadas infectadas este debe ser lavado o fumigado (32). Por el contrario, otros autores mencionan que este no debe llegar al mercado (113).

Es importante muestrear los mercados de aves. Los mercados de aves vivas muchas veces no son totalmente despoblados, además de que manejan diferentes edades y especies y no son lavados ni desinfectados bien. Las cajas son intercambiadas entre vendedores y compañías (99). En 1986 se detectó virus de IA H5N2 en aves vivas en varios mercados de Estados Unidos. Estos mercados fueron despoblados, lavados, desinfectados y monitoreados nuevamente. Esto se repitió varias veces hasta que ya no se aisló virus. Después de esto se les siguió monitoreando una vez al año. A pesar de esto, en 1992 se volvió a aislar virus, y desde entonces los mercados del noreste de Estados Unidos son muestreados cuatro veces al año (70).

Las acciones recomendadas por el gobierno Estado Unidense ante un brote de IA son las siguientes:

- Cuarentenar el área del brote
- Erradicar las parvadas afectadas
- Eliminar cadáveres, productos y material adecuadamente
- Limpiar y desinfectar las instalaciones
- Elaborar un plan de vigilancia
- Tener un tiempo de espera entre parvadas

Así mismo el Departamento de Agricultura tiene mediante los Servicios de Inspección Animal y Vegetal una estructura permanente integrada para programas de emergencia. Esta se encarga de coordinar todas las actividades técnico-administrativas contra epizootias, así como la implementación de una fuerza especial que se instala en un punto estratégico geográfico, que permite tener un mejor control de la situación. Se realiza una comunicación masiva del problema. Por teléfono se reportan los focos sospechosos, al día siguiente se traslada una brigada de diagnóstico a la granja la cual consta de un veterinario y un auxiliar donde se hace el diagnóstico clínico. Se realizan necropsias, se observan por lesiones sugestivas a IA, se toman muestras y se mandan a laboratorios de diagnóstico. Si estas muestras salen positivas se declara cuarentena. Posteriormente se ve si se trata de un virus de alta o baja patogenicidad. Si es altamente patógeno, se despobla con monitoreo oficial. Además se lava y desinfecta. Las aves son decomisadas o enterradas a 2 o 3 m de profundidad. Treinta días después de la limpieza y desinfección se repobla (24). Un ejemplo de buen control es el de un estado Norteamericano de Minnesota. En este estado el control es mediante educación lo cual incluye juntas



con los productores sobre medidas de bioseguridad. También llevan a cabo un monitoreo serológico en la planta procesadora. Las autoridades de este estado ven todos los brotes de influenza como peligrosos, aun si estos son con una cepa no patógena. La industria se comunica mediante cartas y llamadas telefónicas. Los brotes son controlados mediante una cuarentena, la cual no es obligatoria (70). La cuarentena voluntaria incluye el eliminar todo servicio y visitas a la granja, restringir el movimiento del avicultor, de su familia, y empleados, colocando señalamientos de cuarentena. Además esta explotación debe ser la última que el camión de alimento sirva. El comercio de las parvadas lo hacen después de que pasa la fase de eliminación el virus, también hay manejo de parvadas por separado, en otras palabras, calendarizan bien su tiempo. Ellos alegan que es posible eliminar la influenza sin despoblar. En el estado Norteamericano de Pennsylvania se toman muestras al azar de sueros y yema de aves de postura. La yema y el suero son examinados para determinar la presencia de anticuerpos contra IA (70). Se extraen los anticuerpos mediante inmunodifusión (69). También en este país se monitorean los pavos al momento del sacrificio. Si hay un pavo positivo, se rastrea retrospectivamente la parvada, obteniéndose muestras adicionales para intentar el aislamiento viral. Inmediatamente se incrementan las medidas de bioseguridad para evitar la difusión a otras parvadas. También se monitorean las aves de la familia *Ratidae*. Este tipo de aves incluye a las avestruces, emus, y otras aves grandes. De estas aves se toman hisopos y se realiza una suspensión al 10%. Luego se inoculan embriones con 0.3 ml de inóculo y se cosecha el fluido alantoideo de los embriones muertos. Se separan los embriones muertos de los vivos y se trata de aislar el virus. Si salen negativos a IA o Enfermedad de Newcastle, se prueba para otros patógenos aviares. Luego se serotifican. Las aves *Ratidae* no pueden moverse de un estado a otro si no tienen las pruebas con resultados negativos. La vacuna solo está permitida en ciertas áreas de Estados Unidos, siendo más común su uso en pavos. Esta debe ser probada para su eficacia y potencia. Solo es aplicada por veterinarios estatales aprobados. La vacuna es inactivada y con los subtipos H5 Y H7 (69).

En muchas áreas de la Unión Americana el sistema de vigilancia consiste de los siguientes puntos:

- Muestreo en el mercado de aves vivas en la costa este del país
- Colección de muestras de sangre de rastros comerciales establecidos.
- Pruebas de IA en laboratorios y Universidades.
- Monitoreo de aves de subasta por técnicos entrenados.
- Autorización de traslado de aves vivas y distribución en algunos estados.
- Coordinación de responsabilidades a través de grupos involucrados en caso de un aislamiento de IA

Además se incrementa la bioseguridad y se les informa a los productores sobre esto. A las granjas infectadas se les despobló (107).

La vacunación es una opción para el control una vez que el subtipo del virus es identificado. Las vacunas de virus muerto emulsionado son efectivas para pavos y pollos. Se pueden vacunar parvadas de reproductoras y parvadas en riesgo, estas parvadas son bien identificadas y monitoreadas hasta que se venden. También se utilizan aves centinelas para estas parvadas. Es importante recordar que uno debe saber donde está la enfermedad y que hacer (32).

En un estudio se vio que la optimización del balance lipofílico-hidrofílico mejora la eficiencia de las vacunas emulsionadas en aceite. Un balance lipofílico-hidrofílico de 7 produce más anticuerpos. Además se vio que un 10% de surfactante en la fase oleosa da mejores títulos. El balance lipofílico-hidrofílico es la expresión a la atracción simultánea relativa de un emulsificador para el agua y para el aceite. Un balance lipofílico-hidrofílico alto aumenta la dispersabilidad de la emulsión de agua en aceite hacia la solubilidad en medios acuosos y puede ser un factor contribuyente en fluidos corporales (100).

Hubo otro estudio con una vacuna utilizando una copia de DNA clonado del gene de la hemoaglutinina del virus de IA tipo A/Chicken/Scotland/59 (H5N1) expresada en un virus vacunal. Se dice que el pox virus que se usó puede o no ser infeccioso para los pollos. La inmunización de pollos con cultivos celulares infectados con el virus vacunal recombinado emulsionado con adyuvante que contenía un estimado de 0.5  $\mu$ g de hemoaglutininas dio una buena respuesta en los niveles de anticuerpos neutralizantes contra este virus. Las aves estuvieron bien protegidas contra un brote que hubo de IA subtipo H5. El expresar los genes extraños en virus de vacunas da una manera de evaluar las vacunas preparadas con técnicas de recombinación de DNA (23).

En un estudio se les administró a pavos una vacuna emulsionada en aceite, no se generaron reacciones locales o sistémicas indeseables, e indujo producción de anticuerpos detectables contra la nucleocápside y la hemoaglutinina viral. Después de un desafío intranasal, hubo menos eliminación de virus en los vacunados que en los controles. Se vio que una inyección intramuscular de virus muerto con una segunda inyección de virus vivo dio anticuerpos tanto en las pruebas de inhibición de la hemoaglutinación como en la de inhibición de la neuraminidasa, así como protección contra desafíos vivos homólogos. En este estudio se menciona que también hay vacunas monovalentes y polivalentes emulsionadas en aceite. Es importante recordar que la protección cruzada entre diferentes subtipos de hemoaglutininas es mínima. Cabe notar que esta vacunación no confirió un 100% de protección ya que hubo recuperación de virus eliminado por las aves vacunadas (51).

Se realizó otro estudio con vacunas conteniendo una parte de virus inactivado y cuatro partes de aceite. La aplicación de esta vacuna fué subcutánea. Se reporto que al desafiar a las aves con una cepa altamente patógena de virus de IA hubo de 90 a 100% de protección. Tanto la edad del pollo como la dosis de la vacuna afecta la cantidad de virus eliminado por tracto gastrointestinal. Los investigadores mencionan que con dosis de 50 a 500 µl no hubo eliminación de virus vía tracto gastrointestinal, pero no se sabe si hubo eliminación de virus por tracto respiratorio, además hubo respuesta anamnésica, mostrando resistencia a la infección y evitando diseminación de virus. Se comenta que la respuesta anamnésica después del desafío es la mejor manera de medir la eficacia de una vacuna (100).

En un estudio con vacunas inactivadas con adyuvante completo de Freud, se observaron niveles de anticuerpos post-vacunales que daban protección contra la infección (120).

En un estudio en niños de 1 a 6 años de edad, se les inoculó intranasalmente vacuna inactivada de influenza A H3N2. A los que se les había inoculado previamente con vacuna de influenza A H3N2 desarrollaron rápidamente una respuesta local con anticuerpos IgA, indicando que las vacunas de virus vivo inducen memoria de IgA local. La aplicación intranasal de vacunas con virus atenuados e inactivados ha sido promovida como una manera de obtener inmunidad efectiva local y sistémica contra la influenza en humanos. En animales la respuesta inmune mediada por la IgA local del tracto respiratorio es el efector principal para la resistencia a la influenza y otros virus respiratorios. Se ha observado que se forma IgA anti-influenza local de vida corta después de una vacunación primaria intranasal de virus atenuado (119). Ruedi *et al* menciona que las vacunas aplicadas parenteralmente no inducen títulos de anticuerpos secretores en las superficies mucosas, mientras que la inmunización oral o intranasal puede inducir efectivamente la secreción de IgA secretoras antígeno-específicas en el sitio de aplicación (90).

En un estudio realizado en México, una dosis simple de vacuna inactivada emulsionada protegió a las aves contra desafíos con cepas de alta virulencia, sugiriendo que un programa de inmunización de este tipo puede ser utilizado en áreas de alto riesgo como medida de control (31).

Se han realizado estudios de vacunas vivas utilizando neuraminidasas específicas. Las vacunas con subtipos N1 al N8 protegen a los pollos contra desafíos de virus altamente patógenos del mismo subtipo de neuraminidasa sin importar el subtipo de hemoaglutinina. Si se hace lo mismo con vacuna inactivada, no hay protección. Los investigadores dicen que con este tipo de vacuna se podría diferenciar parvadas vacunadas de aquellas que han sido expuestas a cepas de campo. Si un brote ocurre esta vacuna puede ser utilizada para el área donde se piensa erradicar y el anillo que rodea el

área (61). La vacunación anillo es aquella en donde se vacuna la área en cuarentena y el área que la rodea (113).

Se debe recordar que el control de la IA mediante la vacunación es complicado debido a la diversidad antigénica del virus. Estudios con vacunas inactivadas han demostrado que la protección conferida depende del tipo antigénico de la hemoaglutinina viral (31).

La IgA secretora en la mucosa juega un papel importante en la protección contra varios agentes infecciosos. Para mejorar los anticuerpos mucosales protectores, se inoculó una vacuna de influenza con una subunidad B de toxina de cólera intranasalmente a ratones. Se sabe que esta toxina es una molécula auto-adyuvante mucosal excelente. Se vieron niveles altos de IgA antivirales en secreciones nasales cuando las aves tuvieron niveles de anticuerpos altos en sangre, en contraste las muestras de aves que solo se usó la vacuna en donde los niveles de anticuerpos eran bajos, no hubo IgA locales. Las inoculaciones subcutánea y parenteral no dieron IgA locales. Se vio que la respuesta dependía de los niveles de vacuna y de toxina que se administraba. La toxina de cólera es un agente inmunomodulador que estimula tanto IgA secretora como IgG sérica y sirve tanto en problemas digestivos como en respiratorios (101).

En un estudio se utilizó una vacuna autógena, emulsionada en aceite, activada con formalina conteniendo adyuvante incompleto de Freud (9 partes de aceite mineral y 1 parte de emulsificador). Se les dió 1 ml vía subcutánea en el área de cuello a pavos de 30 semanas de edad, dando buenos resultados (11).

Se ha visto que llega a haber protección cruzada entre virus subtipo H1 y H5. Si se presenta un brote de virus subtipo H5 altamente patógeno, esto nos permite usar vacunas basadas en el subtipo H1 con el antígeno apropiado para la neuraminidasa del brote (61).

Gracias a métodos actuales de genética molecular se pueden obtener genomas de microorganismos patógenos e identificar los genes que codifican a los antígenos protectores y aislarlos para insertarlos en un nuevo vector, expresándolos íntegramente. Las características físicas y biológicas del virus de viruela aviar ofrecen varias ventajas para su uso como vector de expresión, estas son:

- Las vacunas causan solo una leve infección autolimitante en las aves
- El virus se puede propagar ya sea en embrión de pollo o en cultivo celulares primarios, así como en líneas celulares permanentes de origen aviar.
- Su gran tamaño permite insertar genes de varios patógenos en su genoma para crear una vacuna polivalente sin que merme su viabilidad.

Es importante insertar en forma estable el gene o genes de interés procedentes del patógeno aviar en el genoma del virus de viruela aviar, expresando dichos genes en forma óptima pero conservando la infectividad del virus. Un vector de expresión elaborado a base de virus de viruela aviar requiere de:

- una región adecuada no esencial en su genoma para insertar el DNA extraño de manera que se inhiba la replicación normal del virus.
- Un gene extraño que codifique para un antígeno protector, de un patógeno avícola.
- Un promotor potente del virus de viruela aviar que regule en forma óptima la expresión del gene o genes extraños insertados.
- Un gene marcador opcional regulado por un promotor diferente del virus de viruela aviar que permita la detección de los virus recombinantes.
- Un plásmido donador que tenga todas las características anteriores.

Se han identificado en el genoma del virus de viruela aviar varias regiones no esenciales. Se utiliza la hemoaglutinina del virus de IA en vacunas recombinantes de viruela aviar, que induce anticuerpos inhibidores para la hemoaglutinación, y da protección contra el desafío con virus virulento de IA. El virus de la viruela aviar puede expresar una copia insertada del cDNA del gene hemoaglutinante H5 del virus de IA, además es estable al calor, de producción económica, y da inmunidad humoral y celular (106). Cabe mencionar que la vacuna ha sido efectiva en el laboratorio. Los investigadores mencionan que este tipo de vacuna no interfiere con el programa de seguimiento con precipitación en agar ya que no detecta anticuerpos vacunales (13). En otro estudio Hunt et al demostró que la proteína viral de la IA expresada en el retrovirus puede estimular una respuesta inmune protectora alta. (45). También se ha realizado lo mismo con vacuolovirus (20).

En otro estudio realizado en Estados Unidos, se dió a ratones dosis de virus influenza A H3N2 tanto en agua de bebida, como en cápsulas, o inyectado en el duodeno. La producción de IgAs e IgGs dependió de la dosis administrada y las condiciones de inmunización, sin embargo al tener estos una exposición intranasal del virus, los ratones vacunados en agua de bebida y los vacunados parenteralmente tuvieron menos concentración de virus tanto en pulmón como en nariz en comparación a los controles (28).

En un estudio realizado en México se vió que una dosis simple de vacuna inactivada y emulsionada puede proteger a las aves contra una exposición de desafío con una cepa de alta virulencia. Se detectó eliminación viral en heces y exudados traqueales en cantidades suficientes para infectar y causar muerte a aves susceptibles. Al desafiar a las aves 7 días después de las vacunación, hubo protección al 90% de las aves (36).

Es importante ver que las vacunas que se utilizan proporcionen protección adecuada. Normalmente para probar la potencia de las vacunas se utiliza la prueba de hemoaglutinación. Otra prueba confiable es la inmunodifusión-radial-sencilla, que se utiliza a nivel internacional para medir la potencia de vacunas de influenza humana donde la potencia es expresada en microgramos de actividad hemoaglutinante (120).

Las vacunas de virus vivo son de administración colectiva o individual, de producción económica, y efectivas para los mismos subtipos de hemoaglutinina, pero son de mucho riesgo debido a su inestabilidad genética (13) y pueden crear recombinaciones altamente virulentas (95). Por otro lado, las vacunas inactivas emulsionadas en aceite son de administración individual, relativamente económicas, efectivas contra los mismos subtipos de hemoaglutinina y menos peligrosas (13).

La vacuna es una herramienta que nos ayuda en el control de la IA. Nos permite proteger a los productores de pérdidas económicas y ellos cooperan en el control de la enfermedad. Además, se reduce la población susceptible, y la cantidad de virus que existe en parvadas si es que llegan a enfermarse (15,32). Otros autores mencionan que la vacunación ayuda a mantener la enfermedad fuera de parvadas no infectadas, y limitada dentro de parvadas vacunadas (32). Hay autores que mencionan que la vacuna es capaz de reducir la cantidad de virus eliminado por una parvada, y prevenir completamente la infección en una parvada expuesta (13). Las vacunas elaboradas con virus activo dan una inmunidad fuerte, de mayor duración, y no causan los problemas característicos de la enfermedad como lo hacen las cepas de campo, sin embargo pueden dar reversión a la virulencia. La administración de vacunas implica el manejo frecuente de aves, ocasionando estrés y aumento de costos de mano de obra, por esto se requieren vacunas con menos manejo de aves (106).

Las vacunas fallan por:

- Vacunar cuando son muy jóvenes las aves para lograr una inmunocompetencia suficiente.
- Inmunosupresión debida a otras enfermedades.
- Aplicación inadecuada de vacunas.

Introducción de cepas antigenicamente distintas a aquellas contra las cuales estaban protegidas las aves (106).

Además, la vacunación puede ayudar a la difusión del virus mediante los vacunadores, e inducir un sentido de seguridad falsa (13) descuidando las medidas de bioseguridad.

El programa de control de IA utilizando la vacunación solo tendrá éxito si se mantiene un solo tipo vacunal, permitiendo identificar con claridad y oportunamente las variantes antigenicas de campo cuando se presenten. Además el uso de animales centinelas detectaría la circulación del virus

(31). Sin embargo hay que recordar que el control por medio de vacunación es complicado debido a la diversidad antigénica del virus (36); las cepas de virus de IA no guardan inmunogenicidad cruzada entre sí (87). La protección conferida depende del tipo antigénico de la hemaglutinina viral (36). Aquí cabe mencionar que una vacuna efectiva debe ser hecha a partir de antígenos H5 y H7 (23).

La vacunación puede contribuir al mantenimiento del virus, ya que disminuye los signos clínicos y previene la mortalidad, pero no previene la infección ni la replicación viral, manteniendo de esta manera los ciclos de replicación viral con la consecuente diseminación de la enfermedad, además de la generación de variantes antigénicas (31). Algunos estudios han demostrado que aves vacunadas después del desafío eliminan virus (36). Con la vacunación se pierde la capacidad para detectar parvadas infectadas por medio de pruebas serológicas (113).

En el brote de 1983 en Estados Unidos, se hizo cuarentena federal en los estados de Pensilvania y Nueva Jersey. Se despoblaron granjas enteras (24). A raíz del brote, se envió una comisión Mexicana para obtener información acerca del problema y para obtener reactivos para la implementación del diagnóstico de IA en México. Fueron los Dr. Jara Guillen Director General de Sanidad Animal y el Dr. Del Río Vargas, Jefe del Departamento de Campañas y Zoonosis. Se determinó que México estaba en riesgo de contraer la enfermedad debido a que obtenía en ese entonces el 100% de las pollitas progenitoras y reproductoras de Estados Unidos. Además iban a aumentar de precio y a disminuir en disponibilidad, así como las compras eventuales de carne y huevo que realizaba México a Estados Unidos. Se contempló el riesgo de contraer la enfermedad a través de aves migratorias durante el invierno y se hizo de reporte obligatorio las enfermedades que pudieran sugerir IA. Se consideró tener el material necesario para diagnosticar la enfermedad. Se estipuló que en caso de un brote en México, bajaría la producción de huevo y carne además de que aumentaría la mortalidad de las aves, repercutiendo en la sociedad y economía del país. Debido a esto se tomaron una serie de medidas y acciones de emergencia para evitar la introducción de la enfermedad, entre estas estuvo la cuarentena exterior, y la vigilancia epizootiológica. Un plan de comunicación e información de los diferentes organismos relacionados con la industria avícola nacional hasta culminar en un seminario entre asociación nacional de avicultores y la dirección general de sanidad animal (ANECA-DGSA). Se reforzó la vigilancia y control de transportes aéreos, terrestres y marítimos procedentes de Estados Unidos. Se prohibió la importación de aves y productos avícolas originarios de los estados afectados y hubo decomiso de aves y productos avícolas originarios de los estados afectados que se pretendían introducir a México ilegalmente. Se analizó información sobre la importación de aves y productos avícolas realizadas durante 1983 para detectar aquellas originarias de los estados Norteamericanos

afectados. Se informó del problema al personal normativo y operativo de las diversas dependencias que intervenían en el control de puertos y fronteras y se solicitó su cooperación. La vigilancia epizootológica se realizó mediante comunicación entre los diversos órganos relacionados con la industria avícola informando sobre el brote de IA en Estados Unidos y solicitando la notificación de cualquier sospecha de IA en México. Se llevo a cabo un rastreo epidemiológico para determinar la situación zoonositaria en Puebla y Morelos ya que ahí se habían importado aves de los estados Norteamericanos afectados. Se decidió que si era necesario se realizaría un vigilancia epidemiológica de la población avícola del país a través del muestreo serológico para determinar la presencia de anticuerpos. Se implementaría un control de movilización de aves para evitar una posible diseminación de la enfermedad, se mantendría una vigilancia permanente de aves migratorias procedentes del norte y se notificaría de mortalidad anormal para así poder tomar medidas sanitarias si se era necesario. También se debería alertar y notificar anomalías sugestivas de IA en rastros de aves del país. Habría comunicación con el banco nacional de crédito rural para notificar de eventos en aves que pudieran sugerir IA. Se informaría al público por medio de medios de comunicación. Además se integró el Comité Nacional de Sanidad Avícola con representantes de varias entidades relacionadas a la industria avícola el cual se reunió e integro la comisión para el diagnóstico de IA, estos realizaron un tríptico con información sobre la IA, y decidieron llevar a cabo en 1984 un seminario sobre la enfermedad (86).

El día 27 de Mayo de 1994 se avisó a la Unión Nacional de Avicultores sobre la presencia de IA en el país. Para el día 30 de ese mes la SARH entregó el plan de trabajo para el operativo de control y erradicación de IA en México. El 9 de Junio la DGSA dió a las delegaciones ganaderas de país los requisitos zoonositarios para la movilización de aves, productos, subproductos, desechos e implementos para la avicultura en la república Mexicana. Además se elaboró la norma de emergencia para la campaña nacional contra la IA (85). El programa de emergencia del país incluye un monitoreo serológico obligatorio, utilizando las pruebas de inhibición de la hemaglutinación y precipitación en agar. Cabe recordar que hay reportes de que la precipitación en agar es menos sensible, y que otra opción para el monitoreo es mediante la prueba de ELISA (59).

La DGSA estableció la unidad para la coordinación del operativo de control y erradicación de IA en México, en donde participan además de la DGSA, la Unión Nacional de Avicultores, el sector comercial e industrial relacionado con la avicultura y el comité de enfermedades infecciosas de las aves del consejo nacional de sanidad animal (CONASA). La DGSA tiene a su cargo el establecer los lineamientos técnicos para las actividades de control y erradicación como son:



- Promover la investigación epizootológica
- Realizar el diagnóstico de la situación
- Difundir medidas de bioseguridad entre los avicultores
- Proponer medidas de control de la movilización de aves y sus productos

Llevar a cabo comunicación social y difusión para mantener informados al público y a los productores (60).

Además la DGSA estableció un programa de constatación de granjas y parvadas libre de IA y se organizaron cursos para aprobar médicos veterinarios zootecnistas en el área (84)

El Operativo de control y Erradicación de la IA en México consta de:

1. Investigación Epidemiológica: que consta de la determinación del origen del problema identificando el mecanismo de entrada de la enfermedad al país, el mapeo epidemiológico estableciendo la distribución de la enfermedad basándose en la información disponible de diagnóstico por aislamiento viral y por detección serológica y/o cuadro clínico, y la utilización de vacunas, viendo donde se sospecha que se ha vacunado y los laboratorios sospechosos de la producción ilegal.
2. Diagnóstico: mediante laboratorio (aislamiento viral, inmunodifusión, inhibición de la hemoaglutinación e inmunofluorescencia), tipificación de virus por la CPA determinando tipo, grupo, subtipos, y patogenicidad, y en laboratorios de diagnóstico autorizados que cumplen con los requisitos para el empleo de las técnicas oficiales de diagnóstico.
3. Determinación de la Magnitud del Problema dividido en: zonas sin reporte o sospecha de la enfermedad con muestreo por personal de la SAGAR y laboratorios oficiales, zonas con reportes o sospecha de la enfermedad con muestreo por médicos veterinarios zootecnistas y diagnóstico en laboratorios oficiales y autorizados, con una metodología regulando el tamaño de muestra, y muestreo de todo tipo de aves comerciales, silvestres, en rastros y de serotecas de laboratorios privados.
4. Prevención y Control mediante: comunicación social y difusión a avicultores sobre bioseguridad y porcicultores para evitar el uso de aves de desecho para alimento de cerdos mediante videocasetes, cursos, manuales, y trípticos informativos, bioseguridad en granjas incinerando cadáveres y desechos. Fomentar la disposición sanitaria de gallinaza, pollinaza y cama, desinfección de instalaciones equipo, y material, prevención y control de otras enfermedades, evitar manejo de edades múltiples. Restringir entrada a visitantes, arco sanitario, vados y baños para personal, control de roedores y fauna nociva. Prohibir la movilización en jaulas de madera

y regular la gallinaza, pollinaza, cama, animales de desecho, materiales que puedan ser de riesgo a granjas, fomentar unidades de desinfección de vehículos y jaulas. Los médicos veterinarios zootecnistas serán aprobados e inspeccionarán los embarques de aves vivas antes de la emisión de la guala sanitaria. El sacrificio de aves será en su zona de origen o en el rastro más cercano. La vacunación será en zonas permitidas.

5. Vigilancia Epidemiológica con notificación por ley en todo el ámbito a la SAGAR. El diagnóstico y control de brotes será por la SAGAR, tipificándolo, y si es de alta patogenicidad se activará el dispositivo nacional de emergencia en salud animal. El monitoreo será por la SAGAR y la industria avícola muestreando periódicamente para determinar el comportamiento epidemiológico de la enfermedad.
6. Requisitos de Importación de Aves y Productos con antecedentes sobre la transmisión del virus e investigación bibliográfica sobre esto en productos y subproductos crudos y procesados. Se relacionará la cepas de México con las de otros países mediante estudios de secuencia de aminoácidos para ver su origen, y se revisarán los requisitos de importación.
7. Instrumentación del Operativo. La SAGAR Establecerá la unidad con apoyo en la unión nacional de avicultores, dirección de campañas zoonosológicas, CPA, CENSA, dirección de control cuarentenario, INFAP, CEIFI, médicos veterinarios zootecnistas, y laboratorios aprobados, además se establecerán los lineamientos técnicos. La UNA se encargará de la comunicación social y difusión al público y el gremio. También ayudará en el monitoreo, diagnóstico, control de movilización, prevención y control. Los otros sectores de la industria cooperarán en el operativo.

El diagnóstico se realiza en laboratorios de diagnóstico veterinarios privados y oficiales, la CPA proporcionará antígeno gratuito para las pruebas de inhibición de la hemoaglutinación, la confirmación y pruebas de virulencia de los casos positivos es hecha por la CPA. Además la CPA se encarga de analizar e integrar la información generada (60). Esto a través del muestreo serológico nacional, con 35 sueros por granja y con información de importancia, y se vio positividad serológica en Jalisco, México, y Querétaro debido al tráfico de aves vivas, productos, y subproductos y sus deficientes infraestructuras del control de la movilización (85).

A partir del 6 de junio de 1994 la SAGAR se reúne semanalmente con dirigentes de la unión nacional de avicultores y representantes de la DGSA para discutir la problemática. Además se publica quincenalmente el boletín sobre la IA, y se está llevando a cabo una coordinación

institucional constando de reuniones, cursos, planes de trabajo, traducciones de folletos sobre bioseguridad, y seminarios (7).

En el Diario Oficial publicado el 7 de Agosto de 1994 se reportó que es de ley la participación de toda persona involucrada con la industria. Los Médicos Veterinarios Zootecnistas aprobados participan en la constatación oficial de parvadas y granjas libres, así como en trabajos de control y erradicación determinados por la Secretaría y vigilancia epidemiológica en áreas libres o en erradicación de la IA. Los laboratorios de diagnóstico que cumplan con los requisitos que se establecen en la Norma Oficial Mexicana de Emergencia serán aprobados y podrán emitir resultados serológicos y de aislamiento viral para la certificación de parvadas y granjas libres de IA así como para el muestreo serológico y virológico en regiones, estados, o zonas en erradicación, pendientes a su liberación oficial. Mensualmente ambos dan reportes a la Delegación Estatal y a la DGSA con respecto a lo que se ha hecho en ese mes. La vacuna estará bajo control de la Secretaría tanto en su producción, aplicación, venta y comercialización, su aplicación será de temporal y autorizada solo en granjas positivas o de alto riesgo en estados o zonas determinadas por la Secretaría como enzooticas a la enfermedad. La Secretaría puede revisar periódicamente a las granjas donde se esta vacunando. Para la constatación de parvadas progenitoras y reproductoras libres se requieren 35 sueros o 35 hisopos cloacales o traqueales así como monitoreo del medio ambiente mediante hisopos de arrastre. Para parvadas comerciales se piden 10 sueros para cada 10,000 aves y monitoreo del medio ambiente, aves de otro tipo requieren de 35 hisopos o muestras del 10% de la parvada, lo que sea mayor. La vigencia del certificado en aves progenitoras y reproductoras será de 10 meses a partir de que se den los resultados serológicos, en otras granjas será de 12 meses si remuestran aleatoriamente cada 3 meses con 35 sueros y los mandan a la Secretaría. Las granjas de engorda lo harán con cada lote que ingrese dando 10 sueros o hisopos cloacales por cada 10,000 aves de 6 semanas de edad. Toda ave que salga positiva a IA altamente patógena en zona libre será sacrificada y se creará un fondo de contingencia para la indemnización.

La movilización de aves de zona libre a una en erradicación o control requieren la gula sanitaria o certificado zoon sanitario.

La movilización de zona en control o erradicación a zona en erradicación o libre requiere de una constancia de que esta libre de IA. El huevo fértil debe ser empacado en cajas de plástico desinfectadas o en cajas o conos nuevos con constancia de desinfección emitida por un médico veterinario zootecnista oficial aprobado o responsable de la explotación. El huevo para plato debe de ir en cajas o conos nuevos y con constancia de granja de postura comercial libre de IA. La carne o

canal troceada debe de ir con una constancia de parvada o granja de engorda libre de IA. No se podrá movilizar pollinaza, gallinaza, menudencias, cama, o cajas viejas o usadas. Otro tipo de aves también deben de ir en cajas desechables o de plástico previamente desinfectadas y con constancia de desinfección de la jaula y con constancia de parvada o granja libre de IA. Aves para ferias no podrán regresar a su origen. La movilización de productos enlatados y embutidos elaborados con materia prima de origen avícola deberán cumplir los requisitos de cocción, temperaturas, transporte, y empaque que fije la Secretaría.

De una zona de control a otra se requiere que aves vivas menores de tres días deben ir en cajas nuevas, con constancia de parvada de origen libre de IA o resultados serológicos de la parvada de origen negativos. Esto siendo de 35 aves por unidad de producción, con un máximo de 15 días antes del embarque. El huevo fértil debe ir en cajas de plástico desinfectadas o en cajas o conos nuevos con constancia de desinfección por un medico veterinario zootecnista oficial, uno aprobado o el responsable de la granja. El huevo para plato debe ir en cajas y conos nuevos. La carne o canal troceada debe ir con guía de movilización o certificado zoosanitario. La pollinaza y gallinaza deben ir en camiones cubiertos o tapados con lonas de granjas libres, o con tratamiento previo para la fermentación avalado por escrito. Esto debe de ir en bolsas o costales que no permitan su salida y llevarlos a cernideros o centros de acopio autorizados por la secretaria con medidas de bioseguridad. Pollos de engorda de una parvada o granja libre de IA o que cada embarque salga negativo a IA por serología.

Los camiones que transporten aves y jaulas de plástico en cualquier zona deben ser lavados y desinfectados en su origen y destino y esto ser constatado por un Medico Veterinario Zootecnista.

La mortalidad debe ser incinerada, cocida, composta, papilla, puré, o transportadas en bolsas de plástico cerradas y desinfectadas en su parte externa.

La campaña en México consta de áreas en control, en control intensivo, en erradicación, y libres. Esto puede ser a nivel parvada, granja, zona, estado, o región.

Para importar aves domésticas se requiere un certificado sanitario diciendo que la planta incubadora originaria, granja productora, estado, región o país es libre de IA. Los y pollos productos o subproductos deben venir de animales sanos libre de IA o de zonas libres e inspeccionados ante y post mortem en establecimientos tipo inspección federal.

Los reactivos para el diagnóstico no deben ser a partir de virus vivo.

El día 23 de enero de 1995 se activo el Dispositivo Nacional de Emergencia en Sanidad Animal para el diagnóstico, prevención, control, y erradicación de IA, publicándose en el diario oficial de la federación, y esta a cargo la CPA.

El plan de acción del Operativo de Emergencia para el Control y Erradicación de IA consta de:

- Tratamiento de gallinaza y pollinaza.
- Vigilancia Epizootiológica mediante un censo avícola en cada zona, y colección de muestras por personal autorizado y pruebas diagnósticas.
- Diagnóstico en laboratorios autorizados
- Autorización de rastros de aves e incubadoras
- Uso de copias de constancias para la movilización de aves, productos, y subproductos avícolas acompañados con certificados.
- Movilización según la norma oficial.

El país ha sido dividido en las siguientes zonas:

- Zona libre: Sinaloa, Sonora, Yucatán
- Zona 1 indenne sin evidencia de enfermedad: Baja California Norte, Baja California Sur, Campeche, Chihuahua, Coahuila, Durango, Nayarit, Quintana Roo, y Zacatecas.
- Zona 2 con aislamiento de virus de IA de baja patogenicidad o serología positiva: Aguascalientes, Colima, Chiapas, D.F., Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Oaxaca, San Luis Potosí, Tamaulipas, Tabasco, Tlaxcala, y Veracruz.
- Zona 3 con aislamientos de virus de IA mediana o altamente patógenos: Puebla y Querétaro.

El tratamiento de la gallinaza fue cubierta el 17 de mayo de 1995 en un documento oficial mencionando que debe ser sacada del gallinero y extendida en montones de 10 m de ancho por 100 m de largo en piso de tierra o cemento (siendo mejor cemento) con una altura de 25 a 30 cm, después se cubre con plástico negro y se deja por 48 horas. Posteriormente se manda al acopio de la empresa y se apila en montones de 1.7 m de alto y se cubre con plástico. A las 48 horas se retira el plástico y se vende. Los vehículos compradores deben llegar lavados, se desinfecta antes de cargar y se cubren con una buena lona. Además la pollinaza deben de contar con el certificado zoonosanitario para su venta o transporte y el control de su movilización es por zonas. Se ha propuesto que se trate el subproducto para que no lleve agentes patógenos y que se movilice solo con autorización del estado. La reventa del subproducto debe hacerse amparada con el certificado de tratamiento de gallinaza avalado por un

médico veterinario zootecnista aprobado, y en su destino debe efectuarse un tratamiento para asegurarse la inactivación del virus.

El huevo debe ser fumigado con permanganato a 20 g por m<sup>3</sup> o con formol a 40 ml por m<sup>3</sup> en un lugar cerrado.

En los rastros se recomienda transportar los desechos en contenedores herméticamente cerrados para evitar escurrimientos en el camino. Se recomienda que haya un solo lugar dentro del tiradero municipal para estos desechos y que el chofer rocíe un desinfectante sobre estos, además se debe limpiar y desinfectar los vehículos al salir y entrar de los rastros. Los rastros deben de contar con tapetes sanitarios a la entrada y salida y se debe lavar y desinfectar perfectamente los lugares de trabajo diariamente asegurándose que el agua de lavado vaya al drenaje de la ciudad. Es bueno evitar escurrimientos de los carros que transportan pollos procesado o enhielado y dar tripticos relacionados con la matanza y el procesamiento. Los desechos deben ir en bolsas de plástico dentro de tambos herméticamente cerrados para evitar escurrimientos y deben ser puestos en contenedores de basura o ser llevados a tiraderos municipales.

Los requisitos para expendios de pollo son los siguientes:

- Registro ante la SAGAR y la Secretaría de Salubridad (SSA)
- Tener de responsiva a un médico veterinario zootecnista acreditado
- Recibir aves con guía sanitaria
- Que procedan de parvadas con certificado libre de salmonella y Newcastle
- Certificado de parvada serológicamente negativa a IA.
- Piso de concreto
- Arco de desinfección o bomba para desinfección.

Cuando ocurrió el brote en Tehuacán, Puebla con virus de mediana virulencia se despobló, se reforzó la bioseguridad, las aves fueron a rastros autorizados, se desinfectaron las instalaciones y los productos de desecho de las aves y se intensificó la vigilancia en esta zona. En esta misma área, para el mes de enero se encontró un brote con virus de alta virulencia. Se hizo cuarentena estricta de la zona para evitar la movilización de aves, productos y subproductos sin control oficial y se evaluaron granjas aledañas, se realizó un muestreo serológico, y se reforzó la bioseguridad. Además se estableció un operativo de emergencia con publicación en el diario oficial del 23 de enero de 1995. Con esto se activó el Dispositivo Nacional de Emergencia de Sanidad Animal, estableciendo una coordinación de acciones de control y erradicación del gobierno del estado y la delegación de la SAGAR. También en este mes se detectó un brote de alta patogenicidad en Querétaro. Ahí se

sacrificaron 11.000 aves enfermas y expuestas, además de una cuarentena estricta de la zona. En el mismo mes en Tepatitlan Jalisco se detectó un brote de mediana virulencia. Ahí se realizó un monitoreo serológico, aislamiento viral, y control de movilización de aves y sus productos (83).

El operativo de emergencia contempla la vacunación, que esta permitida en México en casos de IA alta y medianamente patógena. Para que se permita vacunar en una granja, esta debe enviar una solicitud por escrito a la SAGAR, tomando una copia a DGSA. La subdelegación de Ganadería la evaluará y responderá con un oficio a los solicitantes. Ya con la autorización el solicitante procederá a comprar la vacuna a un laboratorio autorizado, dejando aves centinelas. La vacuna es producida por Laboratorios Pronavive.

La vacunación debe ser utilizada como última opción. En Estados Unidos se esta llevando a cabo la fase de erradicación y en Sudamérica ya restringieron importaciones de pollo proveniente de Estados Unidos ya que se cree que ahí se originó el problema que afectó a México (82). Hay autores que estiman que México tardara de 2 a 3 años para controlar la enfermedad (5). Es importante recordar que las oportunidades de éxito en el control son proporcionales al nivel y calidad del esfuerzo dado (13), y que al ser menos dependientes de higiene y seguridad, mas susceptibles se es para la propagación de la IA.

## ERRADICACIÓN

La erradicación significa la eliminación total de una enfermedad en un área determinada, y se logra mediante el sacrificio y destrucción de parvadas infectadas (87) cuarentenando primero el área donde del brote, y luego despoblando (67). Para que la erradicación sea efectiva, se deben eliminar todas las formas del virus de influenza H5N2 presentes en México (113). Hay que tener en mente que la erradicación y la vacunación son incompatibles (112).

La erradicación se logra mediante:

- sacrificio de las aves afectadas
- destrucción adecuada de cadáveres
- cuarentenar predios contaminados
- reforzar las medidas preventivas para el transporte de aves expuestas
- control de la diseminación mediante el hombre y fomites.

Los predios afectados deben ser despoblados y desinfectados y después repoblar y colocar aves centinelas. Es necesario pensar en la campaña de erradicación y los gastos que esta implica (57).

Cuando surgió el brote de 1983 en Estados Unidos, México consideró la posibilidad de ser afectado por la enfermedad y se decidió que si esto sucedía, se realizaría una campaña de erradicación. Se realizó un flujo de notificación ante la confirmación de un brote de IA en México, y se declaró de utilidad pública el control y erradicación de la IA subtipo H5N2 altamente patógeno dando a la SARH por medio de la DGSA la autoridad para llevar a cabo la erradicación. Si esta enfermedad entrase a México, se crearía la comisión intersecretarial de lucha contra IA. La Secretaría de Defensa Nacional colaboraría en los planes, la Secretaría de Comunicaciones y Transporte vigilaría el movimiento de aves y productos, los gobiernos de los estados también colaborarían, y la Secretaría de Programación y Presupuesto apoyaría a la SARH en caso de una brote (57). Se concluyó que la cuarentena era la medida más efectiva para evitar la difusión de la enfermedad, y que una vez diagnosticada, se debería establecer el área infectada, y cuarentenar tanto predios afectados como los de su alrededor a un radio de 8 km., y de 8 a 24 kms alrededor, según las condiciones, sería el área de amortiguación. Las aves incluyendo aves de ornato, en estas dos áreas serían inspeccionadas diariamente por médicos veterinarios zootecnistas para determinar la extensión del brote. Se les daría informes a los propietarios y se les pediría su cooperación. Estas inspecciones durarían 30 días después del último brote confirmado y la cuarentena duraría de 30 a 90 días después de la limpieza y desinfección. Además, se utilizaría medidas de bioseguridad para realizar las



inspecciones. En el área de amortiguación si no hubiese médicos veterinarios zootecnistas, las inspecciones serian realizas por técnicos en salud animal y las inspecciones seria al menos dos veces por semana hasta que se lograra erradicar la enfermedad. Se pondrían puestos de vigilancia y patrullas de seguridad alrededor de estas áreas, en carreteras o caminos que delimiten el área, trabajando 24 horas al día hasta que se controlara la situación. Además, no podrían salir aves de estas áreas e ir a rastos (57)

En el brote que hubo en Estados Unidos de 1983 a 1984 se gastaron 60 millones de dolares para la erradicación, por la que la prevención es tan importante para los productores y consumidores (109). Un incentivo que tuvieron los productores americanos para considerar la erradicación, era que el gobierno les indemnizaba a los que tuvieran que despoblar sus granjas. Es necesario recordar que el costo de erradicación es alto, pero el potencial de convivir con la enfermedad, y tratar solo de controlarla es mucho mas caro (20).

## LITERATURA CITADA

- 1.- Acland, H.M., Silverman, L.A., and Eckroade, R.J.: Lesions in broiler and layer chickens in an outbreak of highly pathogenic avian influenza virus infection. Vet. Patholo. **21**: 564-569. (1984).
- 2.- Alexander, D.J.: Avian influenza-historical aspects. Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza, Athens, GA, U.S.A., 1986. 4-13 Extension Duplicating Services, University of Wisconsin-Madison, Madison, WI (1987).
- 3.- Alexander, D.J., and Gough, R.E.: Isolations of avian influenza virus from birds in Great Britain. The Vet. Rec. **118**: 537-538 (1986).
- 4.- Alexander, D.J., Parsons, G., and Manvell, R.J.: Experimental assessment of the pathogenicity of eight avian influenza A viruses of H5 subtype for chickens, turkeys, ducks, and quail. Avian Patholo. **15**: 647-662 (1986).
- 5.- Anónimo: Confirmado el brote de influenza aviar en México. Acontecer Avícola **3**: 17-18 (1995).
- 6.- Anónimo: Influenza aviar en México. Correo Avícola **7**: 36-39 (1994).
- 7.- Anónimo: Una amenaza para la avicultura de Mexico. Acontecer Avícola **3**: 20-22 (1995).
- 8.- Arias, J.: Procedimientos y flujo para el diagnóstico de influenza aviar. Seminario Sobre Influenza Aviar, México D.F. 1984. 94-97 ANECA, México, D.F. (1984).
- 9.- Assad, F.: World health organization program on influenza. Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza, Athens, GA, U.S.A. 1986. 174-176. Extension Duplicating Services, University of Wisconsin-Madison, Madison WI (1987).
- 10.- Attar, M.A., Nielsen, K., and Mitchell, W.R.: The application of the soluble antigen fluorescent antibody test for the diagnosis of avian influenza. Can. J. Comp. Med. **45**: 140-146 (1981).
- 11.- Bahl, A.K., and Pomeroy, B.S.: Efficacy of avian influenza oil-emulsion vaccine in breeder turkeys. J. Am. Vet. Med. Assos. **171**: 1105 (1977).
- 12.- Banda, A.C.: Metodología diagnostica para influenza aviar. Correo Avícola **7**: 44 (1994)
- 13.- Beard, C.: Medidas de control de influenza aviar. Curso de Actualización sobre Influenza Aviar, México D.F. 1994. 1-6 ANECA, México, D.F. (1994).
- 14.- Beard, C.W., Brugh, M., and Webster, R.G.: Emergence of amantidine-resistant H5N2 avian influenza virus during a simulated layer flock treatment program. Avian Dis. **31**: 533-537 (1987).
- 15.- Beard, C.W., and Helfer, D.H.: Isolation of two turkey influenza viruses in Oregon. Avian Dis. **16**: 1133-1136 (1972).

- 16.- Becker, W.B., and Uys, C.J.: Experimental infection of chickens with influenza A/Tern/South Africa/1961 and Chicken/Scotland/1959 viruses. J. Comp. Path., **77**: 159-165 (1967).
- 17.- Borrego, J.L., y Soto, E.: Analisis de los parametros productivos de gallinas de postura que han sufrido el desafio con virus de influenza aviar de baja patogenicidad. XX Convención Nacional ANECA Guerrero, México. 1995. 5-7 ANECA. México, D.F.(1995).
- 18.- Brugh, M.: Historia de influenza aviar y determinación de la patogenicidad. Curso de Actualización sobre Influenza Aviar México, D.F. 1994. 7-16 ANECA, México, D.F. (1994).
- 19.- Brugh, M., and Johnson, D.C.: Epidemiology of avian influenza in domestic poultry. Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza. Athens, GA, U.S.A. 1986. 177-186. Extension Duplicating Services. University of Wisconsin-Madison. Madison WI (1987).
- 20.- Calneek, B.W.: Diseases of Poultry. 9th Ed. Iowa State University Press. U.S.A, 1991.
- 21.- Camacho, F.E., Gonzales, J., y Soto, P.E.: Analisis de la presentacion de influenza aviar de baja patogenicidad en pollo de engorda en el valle de México. XX Convención Nacional ANECA Guerrero, México. 1995. 8-11 ANECA. México, D.F.(1995).
- 22.- Cooley, A.J., Van Campen, H., Philpott, M.S., Easterday, B.C., and Hinshaw, V.S.: Pathological lesions in the lungs of ducks infected with influenza A viruses. Vet. Patholo., **26**: 1-5 (1989).
- 23.- De, B.K., Shaw, M.W., Rota, P.A., Harmon, M.W., Esposito, J.J., Rott, R., Cox, N.J., and Kendal, A.P.: Protection against virulent H5 avian influenza virus infection in chickens by an inactivated vaccine produced with recominant vaccinia virus. Vaccine, **6**: 257-261 (1988).
- 24.- Del Rio, J.A.: Presencia de un brote de influenza aviar altamente patogena cepa H5N2 en los Estados Unidos de Norteamerica. Seminario Sobre Influenza Aviar. México, D.F. 1984. 23-30. ANECA. México, D.F. (1984)
- 25.- Easterday, B.C.: Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza. Athens, GA, U.S.A. 1986. VII. Extension Duplicating Services. University of Wisconsin-Madison Madison, Wisconsin. (1986).
- 26.- Englund, L., Klingenborn, B., and Mejerland, T.: Avian influenza A virus causing an outbreak of contagious interstitial pneumonia in mink. Acta Vet. Scand., **27**: 497-504 (1986).
- 27.- Estudillo J.: Consideraciones sobre el instinto migratorio de las aves silvestres y su posible implicación como vectores del virus de la influenza. XX Convención Nacional ANECA Guerrero, México. 1995. 78-96 ANECA. México, D.F.(1995).

- 28.- Farag-Mahmod, F.I., Wyde, P.R., Roseborough, J.P., and Six, H.R.: Immunogenicity and efficacy of orally administered inactivated influenza virus vaccine in mice. Vaccine, 6: 262-268 (1988).
- 29.- Fichtner, G.J.: The Pennsylvania/Virginia experience in eradication of avian influenza (H5N2). Proceedings of the Second International Symposium of Avian Influenza. Athens, GA, U.S.A. 1986. 33-38. Extension Duplicating Services, University of Wisconsin-Madison Madison, WI. (1987).
- 30.- Fraire, M., y Paz, P.: Aislamientos en México del virus de influenza aviar. XX Convención Nacional ANECA. Guerrero, México. 1995. 97-99 ANECA, México, D.F. (1995).
- 31.- Garcia, J., Hernandez, M.A., y Rodriguez, V.H.: Factores de patogenicidad e inmunización contra influenza aviar. XX Convención Nacional ANECA. Guerrero México. 1995. 397-404. ANECA, México, D.F. (1995).
- 32.- Halvorson, D.A.: Experiencia en el control de influenza aviar en Minnesota. Segundo Curso de Actualización Sobre Influenza Aviar. México, D.F. 1994. 12-22. ANECA, México, D.F. (1994).
- 33.- Halvorson, D.A., Karunakaran, D., Abraham, A.S., Newman, J.A., Sivanandan, V., and Poss, P.E.: Efficacy of vaccine in the control of avian influenza. Proceedings of the Second International Symposium of Avian Influenza. Athens, GA, U.S.A. 1986. 264-270. Extension Duplicating Services, University of Wisconsin-Madison Madison, WI. (1987).
- 34.- Halvorson, D.A., Karunakaran, D., and Newman, J.A.: Avian influenza in caged laying chickens. Avian Dis., 24: 288-294 (1979).
- 35.- Halvorson, D.A., Kelleher, C.J., and Senne, D.A.: Epizootiology of avian influenza: effect of season on incidence in sentinel ducks and domestic turkeys in Minnesota. Appl. Environ. Microbiol., 49: 914-919 (1985).
- 36.- Hernandez, M.A., Rodriguez, V.H., Rivera, C.E., y Garcia, J.: Evaluación de una vacuna comercial emulsionada contra influenza aviar. Jornadas Médico Avícolas. México, D.F. 1995. 59-62. UNAM México, D.F. (1995).
- 37.- Hinshaw, V.S.: Surveillance of waterfowl: who, what, when, where, how & why? Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza. Athens, GA, U.S.A. 1986. 163-170. Extension Duplicating Services, University of Wisconsin-Madison. Madison, WI, U.S.A. (1987).
- 38.- Hinshaw, V.S.: The nature of avian influenza in migratory waterfowl, including interspecies transmission. Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza. Athens, GA, U.S.A. 1986. 133-141. Extension Duplicating Services, University of Wisconsin-Madison. Madison, WI, U.S.A. (1987).

- 39.- Hinshaw, V.S., Bean, W.J., Geraci, J., Fiorelli, P., Early, G., and Webster, R.G.: Characterization of two influenza A viruses from a pilot whale. J. Virolo. 58: 655-656 (1986).
- 40.- Hinshaw, V.S., Bean, W.J., Webster, R.G., Rehg, J.E., Fiorelli, P., Early, G., Gearach, J.R., and Aubin, D.J.: Area seals frequently infected with avian influenza viruses? J. Virolo. 52: 863-865 (1984).
- 41.- Hinshaw, V.S., Nettles, V.F., Schorr, L.F., Wood, J.M. and Webster, R.G.: Influenza virus surveillance in waterfowl in Pennsylvania after the H5N2 avian outbreak. Avian Dis. 30: 207- 212 (1985).
- 42.- Hinshaw, V.S., Webster, R.G., and Bean, W.J.: Swine influenza like viruses in turkeys: potential source of virus for humans? Science 22: 206-208. (1982).
- 43.- Hinshaw V.S., Webster, R.G., and Turner, B.: The perpetuation of orthomyxoviruses and paramyxoviruses in Canadian waterfowl. Can. J. Microbiolo. 26: 622-629 (1980).
- 44.- Homme, P.J., and Easterday, B.C.: Avian influenza virus infections III. Antibody response by turkeys to Influenza A turkey Wisconsin 1966 virus. Avian Dis. 14: 227-284 (1969).
- 45.- Hunt, L.A., Brown, D.W., Robinson, H.L., Naevø, C.W., and Webster, R.G.: Retrovirus-expressed hemagglutinin protects against lethal influenza virus infection. J. Virolo. 62: 3014-3019 (1988)
- 46.- Johnson, D.C., and Maxfield, B.G.: An occurrence of avian influenza virus infection in laying chickens. Avian Dis. 20: 422- 424. (1976).
- 47.- Johnson, D.C., Maxfield, B.G., and Mounthorp, J.I.: Epidemiologic studies of the 1975 avian influenza outbreak in chickens in Alabama. Avian Dis. 21: 167-17 (1976).
- 48.- Jungherr, E.L., Tyzzer, E.E., Brandly, C.A., and Moses, H.E.: The comparative pathology of fowl plague and newcastle disease. Am. J. Vet. Res. 7: 250-283 (1946).
- 49.- Kaleta, E.F.: The epidemiology of avian influenza in pet birds and free living birds other than migratory waterfowl. Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza. Athens, GA, U.S.A. 1986. 142-149. Extension Duplicating Services. University of Wisconsin-Madison. Madison, WI, U.S.A. (1987).
- 50.- Karunakaran, D., Hinshaw, V., Poss, P., Newman, J., and Halvorson, D.: Influenza A outbreaks in Minnesota turkeys due to subtype H10N7 and possible transmission by waterfowl. Avian Dis. 27: 357- 366 (1982).
- 51.- Karunakaran, D., Newman, J.A., Halvorson, D.A., and Abraham, A.: Evaluation of inactivated influenza vaccines in market turkeys. Avian Dis. 31: 498- 503. (1987).

- 52.- Kawaoka, Y., Bean, W.K., and Webster, R.G.: Molecular characterization of the A/Chicken/Pennsylvania/83 (H5N2). Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza. Athens, GA, U.S.A. 1986. 197-206. Extension Duplicating Services. University of Wisconsin-Madison. Madison, WI, U.S.A. (1987).
- 53.- Lancaster, J.E.: The control of avian influenza from the perspective of international agencies. Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza. Athens, GA, U.S.A. 1986. 382-389. Extension Duplicating Services. University of Wisconsin-Madison. Madison, WI, U.S.A. (1987).
- 54.- Lang, G., Ferguson, A.E., Connell, M.C., and Wills, C.G.: Isolation of an unidentified hemagglutinating virus from the respiratory tract of turkeys. Avian Dis. 9: 495-504. (1968).
- 55.- Lang, G., Narayan, O., Rouse, B.T., Ferguson, A.E., and Connell, M.C.: A new influenza A virus infection in turkeys II. a highly pathogenic variant, A/Turkey/Ontario 7732/66. Can. Vet. J. 9: 151-160. (1968).
- 56.- Lang, G., Rouse, B.T., Narayan, O., Ferguson, A.E., and Connell, M.C.: A new influenza virus infection in turkeys I. isolation and characterization of virus 6213. Can. Vet. J. 9: 22-29 (1968)
- 57.- Larios, J.: Procedimiento de emergencia para el control y erradicación de un posible brote de influenza aviar en México. Seminario Sobre Influenza Aviar México, D.F. 1984. 76-93. ANECA, México, D.F. (1984).
- 58.- Lucio, E.D.: Resultados serológicos obtenidos en el laboratorio a partir de muestras de campo empleando las pruebas de inhibición de la hemaglutinación (IH) y precipitación en gel de agar. Segundo Curso de Actualización sobre Influenza Aviar, México, D.F. 1994. 23-33. ANECA, México, D.F. (1994).
- 59.- Lucio, E.D., Toscano, A., y Fraire, P.: Serological findings in Mexico with a low pathogenicity influenza virus H5N2 from the field using the conventional tests. Proceedings of the Forty-fourth disease Conference California, Sacramento, U.S.A. 2-15. University of California, Sacramento, U.S.A. (1995).
- 60.- Mateos, A.: Presencia de virus de influenza aviar en México. Curso de Actualización sobre Influenza Aviar. México, D.F. 1994. 17-22 ANECA México, D.F. (1994).
- 61.- McNulty, M.S., Allan, G.M., and Adair, B.M.: Inactivated avian influenza neuraminidase-specific vaccines in chickens. Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza. Athens, GA, U.S.A. 1986. 279-282. Extension Duplicating Services. University of Wisconsin-Madison. Madison, WI, U.S.A. (1987).

- 62.- Meulemans, G., Carlier, M.C., Gonze, M., and Petit, P.: Comparison of hemagglutination-inhibition, agar gel precipitin, and enzyme-linked immunosorbent assay for measuring antibodies against influenza viruses in chickens. Avian Dis. 31: 560-563 (1987).
- 63.- Mohan, R., Saif, Y.M., Erickson, G.A., Gustafson, G.A., and Easterday, B.C.: Serologic and epidemiologic evidence of infection in turkeys with an agent related to the swine influenza virus. Avian Dis. 25: 11-16 (1980).
- 64.- Naeve, C.W., Hinshaw, V.S., and Webster, R.G.: Mutations in the hemagglutinin receptor-binding site can change the biological properties of an influenza virus. J. Virology, 52: 567-659 (1984).
- 65.- Nettles, V.F.: Discussion Period 1. Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza, Athens, GA, U.S.A. 1986. 67-69. Extension Duplicating Services. University of Wisconsin-Madison, Madison, WI, U.S.A. (1987).
- 66.- Nettles, V.F., Webster, R.G., Hinshaw, V.S., and Wood, J.M.: The status of wildlife associated with the 1983-1984 avian influenza outbreak in Pennsylvania/Virginia. Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza, Athens, GA, U.S.A. 1986. 51-60. Extension Duplicating Services. University of Wisconsin-Madison, Madison, WI, U.S.A. (1987).
- 67.- Nettles, V.F., Wood, J.M., and Webster, R.G.: Wildlife surveillance associated with an outbreak of lethal H5N2 avian influenza in domestic poultry. Avian Dis. 29: 733-742 (1985).
- 68.- Ortiz, A.M., Rodríguez, L.S., García, A.F. y Aguirre, J.F.: First outbreaks of avian influenza in México. Proceedings of the Forty-Fourth Western Poultry Disease Conference, Sacramento, CA, U.S.A. 1995. 12-13 Veterinary Extension. University of California-Davis, U.S.A. (1995).
- 69.- Pearson, J.E.: Conferencia sustentada por el Dr. James E. Pearson del día 24 de junio. Curso de Actualización Sobre Influenza Aviar, México, D.F. 1994. 29-34. ANECA, México, D.F. (1994).
- 70.- Pearson, J.E.: Criterio para la caracterización del virus de influenza aviar para tomar acciones reguladoras y la influenza aviar en Estados Unidos de 1986-1994. Curso de Actualización Sobre Influenza Aviar, México, D.F. 1994. 23-28. ANECA, México, D.F. (1994).
- 71.- Pearson, J.E. and Senne, D.A.: Diagnostic procedures for avian influenza. Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza, Athens, GA, U.S.A. 1986. 222-227 Extension Duplicating Services. University of Wisconsin-Madison, Madison, WI, U.S.A. (1987).
- 72.- Pearson, J.E., Senne, D.A., Carbrey, E.A., Gustafson, G.A., Landgraf, J.G., Cassidy, D.R., and Erickson, G.A.: Laboratory support for the Pennsylvania/Virginia avian influenza outbreak. Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza, Athens, GA, U.S.A. 1986.

- 39-50 Extension Duplicating Services. University of Wisconsin-Madison. Madison, WI, U.S.A. (1987).
- 73.- Philpott, M., Easterday, B.C., and Hinshaw, V.S.: Antigenic and phenotypic variants of a virulent avian influenza virus selected during replication in ducks. J. Wildl. Dis., **25**: 507-513. (1989).
- 74.- Philpott, M., Easterday, B.C., and Hinshaw, V.S.: Neutralizing epitopes of the H5 hemagglutinin from a virulent avian influenza virus and their relationship to pathogenicity. J. Virol., **63**: 3453-3458 (1989).
- 75.- Pomeroy, B.S.: Avian influenza in turkeys in U.S.A. (1981-86) Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza, Athens, GA, U.S.A. 1986. 14-21. Extension Duplicating Services. University of Wisconsin-Madison. Madison, WI, U.S.A. (1987).
- 76.- Poss, P.E., Friendshuh, K.A., and Ausherman, L.T.: The control of avian influenza. Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza, Athens, GA, U.S.A. 1986. 318-326 Extension Duplicating Services. University of Wisconsin-Madison. Madison, WI, U.S.A. (1987).
- 77.- Poss, P.E., and Halvorson, D.A.: The nature of avian influenza in turkeys in Minnesota. Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza. Athens, GA, U.S.A. 1986. 112-117 Extension Duplicating Services. University of Wisconsin-Madison. Madison, WI, U.S.A. (1987).
- 78.- Potter, A.G., Barber, C., Carey, N.H., Hallenwell, R.A., Threlfall, G., and Emtage, J.S.: Complete nucleotide sequence of an influenza virus haemagglutinin gene from cloned DNA. Nature, **29**: 471-477 (1979).
- 79.- Quintana, J.A.: Diagnostico diferencial de influenza aviar. Correo Avicola, **7**: 52 (1994).
- 80.- Quintana, J.A.: Propuestas para frenar la diseminación del virus de influenza aviar. Acontecer Avicola, **3**: 34-36 (1994).
- 81.- Quintana, J.A.: Propuestas para frenar la diseminación del virus de influenza aviar. Correo Avicola, **7**: 52 (1994).
- 82.- Rebollo, M.: La vacuna es la última opción contra influenza aviar. Síntesis Avicola 30-34. (1994).
- 83.- Rivera, E.C.: Curso de la influenza aviar en México. Acontecer Avicola, **3**: 38-42 (1994).
- 84.- Rivera, E.C.: Informe de la campaña nacional contra la influenza aviar. Segundo Curso de Actualización Sobre Influenza Aviar. México, D.F. 1994. 34-35 ANECA. México, D.F. (1994).
- 85.- Rivera, E.C.: Medidas oficiales de control de la influenza aviar en México. Curso de Actualización Sobre Influenza Aviar. México, D.F. 1994. 35-37 ANECA. México, D.F. (1994).



- 86.- Rodriguez, G.A.: Medidas preventivas adoptadas por la direccion general de sanidad animal de Mexico. Seminario Sobre Influenza Aviar. México, D.F. 1984, 59-73. ANECA. México, D.F. (1984).
- 87.- Rosales, A.G.: La influenza aviar. Seminario Sobre Influenza Aviar. México, D.F. 1984. 7-22. ANECA. México, D.F. (1984).
- 88.- Rosales, A.G., y Lucio, B.M.: Influenza aviar. Características del agente etiológico. Seminario Sobre Influenza Aviar. México, D.F. 1984. 1-6. ANECA. México, D.F. (1984)
- 89.- Rott, R., Tashiro, M., and Klenk, H.D.: The impact of further knowledge of the avian influenza viruses. Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza, Athens, GA, U.S.A. 1986. 427-433 Extension Duplicating Services. University of Wisconsin-Madison, Madison, WI, U.S.A. (1987).
- 90.- Ruedi, C., Frühlwirth, M., Wick, G., and Wolf, H.: Immune response in the lungs following oral immunization with bacterial lysates of respiratory pathogens. Clin. Diag. Lab. Immunol., 1: 150-154 (1994).
- 91.- Sarfati, D.: Notas relevantes del curso de actualización sobre influenza aviar ANECA. UNA, SARH. Correo Avícola, 7: 66 (1994).
- 92.- Senne, D.A., Pearson, J.E., Kawakita, Y., Carbrey, E. and Webster, R.G.: Alternative methods for evaluation of pathogenicity of chicken Pennsylvania H5N2 viruses. Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza, Athens, GA, U.S.A. 1986. 246-257. Extension Duplicating Services. University of Wisconsin-Madison, Madison, WI, U.S.A. (1987)
- 93.- Senne, D.A., Pearson, J.E., Miller, L.D., and Gustafson, G.A.: Virus isolations from pet birds submitted for importation into the United States. Avian Dis. 27: 731- 744 (1983).
- 94.- Shocholtissek, C., Naylor, E.: Fish farming and influenza pandemics. Nature, 331: 215 (1988).
- 95.- Shocholtissek, C., and Rott, R.: Genetic characteristics and changes related to pathogenicity. Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza, Athens, GA, U.S.A. 1986. 187-196. Extension Duplicating Services. University of Wisconsin-Madison, Madison, WI, U.S.A. (1987)
- 96.- Snyder, D.B., Marquardt, W.W., Yancey, F.S., and Savage, P.K.: An enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibody against avian influenza virus. Avian Dis. 29: 136-144 (1984).
- 97.- Soto, E.: Influenza aviar. Correo Avícola, 7: 55-57. (1994)

98.- Soto, E., Gay, M., Lozano, B. and Sarfati, D.: Isolation and identification of a non pathogenic avian influenza virus in México. Proceedings of the Forty-Fourth Western Poultry Disease Conference, Sacramento, CA, U.S.A 1995. 11-13 Veterinary Extension. University of California-Davis, U.S.A. (1995).

99.- Stewart, R.G.: Control of fowl plague-like avian influenza from the perspective of a primary supplier of breeding stock. Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza, Athens, GA, U.S.A. 1986. 342-345. Extension Duplicating Services. University of Wisconsin-Madison, Madison, WI, U.S.A. (1987).

100.- Stone, H.D.: Optimization of hydrophile-lipophile balance for improved efficacy of newcastle disease and avian influenza oil-emulsion vaccines. Avian Dis. 32: 68-73 (1987).

101.- Tamura, S., Samegai, Y., Kurata, H., Nagamine, T., Aizawa, C., and Kurata, T.: Protection against influenza virus infection by vaccine inoculated intranasally with cholera toxin B subunit. Vaccine, 6: 409-413 (1988).

102.- Tashiro, M., Ciborowski, P., Klenk, H.D., Pulverer, G., and Rott, R.: Role of *staphylococcus protease* in the development of influenza pneumonia. Nature 352: 536-537 (1987).

103.- Téllez, G.I. y Mateos, A.P.: Propiedades biológicas de la patogenicidad del virus de la influenza aviar. Correo Avícola, 7: 53-54 (1994)

104.- Tizzard, I.: *Inmunología Veterinaria*. 3a ed. Interamericana McGraw Hill México. 1989.

105.- Toscano C., Barrón, L., Lucio, E. y García, L.: Estudio virológico y serológico de influenza aviar H5N2 de baja patogenicidad. XX Convención Nacional ANECA, Guerrero, México, 1995. 312-317 ANECA, México, D.F. (1995).

106.- Tripanthy, D.N.: Virus recombinantes de la viruela aviar que protegen a los pollos contra el virus virulento de la influenza aviar (H5N2). Segundo Curso de Actualización sobre Influenza Aviar, México, D.F. 1994. 48-54. ANECA, México, D.F. (1994).

107.- Trock, S.: Epidemiología de la influenza aviar. Curso de Actualización sobre Influenza Aviar, México, D.F. 1994. 36-47. ANECA, México, D.F. (1994).

108.- Van Buskirk, M.A.: Control of avian influenza from the perspective of state government. Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza, Athens, GA, U.S.A. 1986. 347-357. Extension Duplicating Services. University of Wisconsin-Madison, Madison, WI, U.S.A. (1987)

109.- Van Campen, H., Easterday, B.C., and Hinshaw, V.S.: Destruction of lymphocytes by a virulent avian influenza A virus. J. Gen. Virol. 70: 467-472. (1989).

FALTA PAGINA No.

70

121.- Wood, J.M., Webster, R.G., and Nettles, V.F.; Host range of A/chicken/Pennsylvania/83 (H5N2) influenza virus. Avian Dis. 29: 198-207 (1984).

# VIRUS DE LA INFLUENZA AVIAR

---

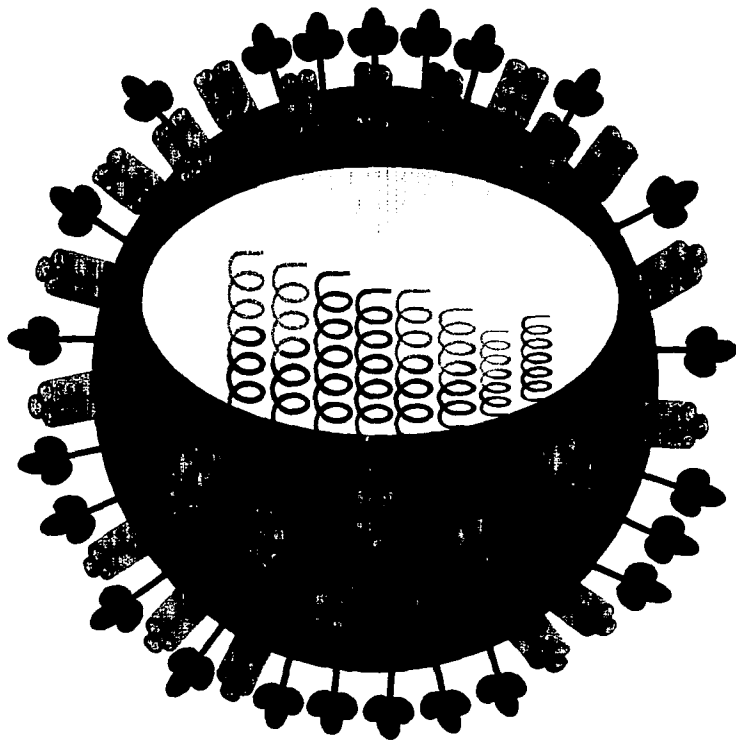


figura 1

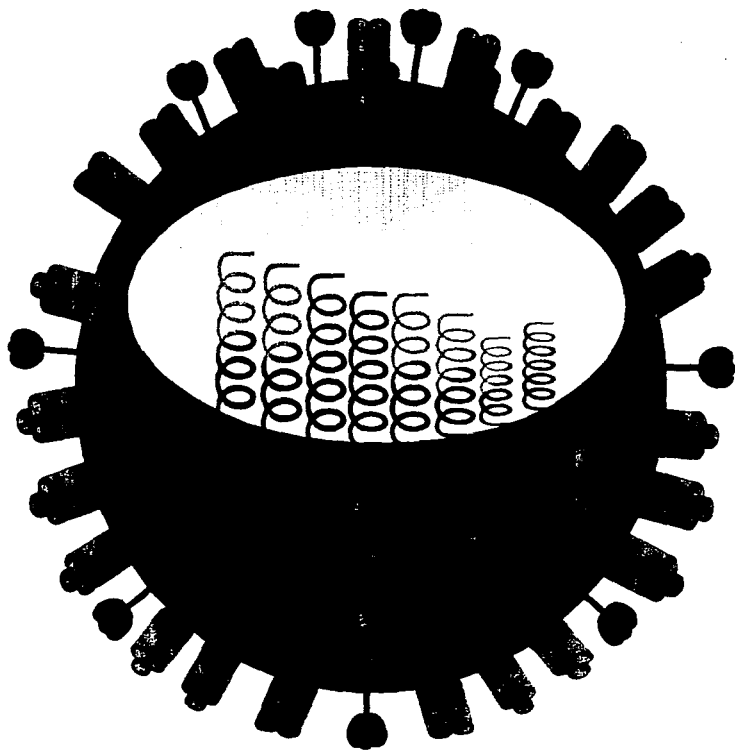


figura 2

**CAMPAÑA NACIONAL CONTRA LA  
INFLUENZA AVIAR  
1995**



LIA - LIBRE

□ ZONA SIN EVIDENCIA

- ZONAS EN CONTROL -

■ SEROLOGIA POSITIVA

■ AISLAMIENTO VIRAL

■ VIRUS DE MEDIANA Y ALTA PATOGENICIDAD

\* REGION LAGUNERA

**REQUISITOS PARA LA EMISION DE CONSTANCIAS DE PARVADAS  
Y GRANJAS LIBRES DE INFLUENZA AVIAR**

FUNCION ZOOTECNICA	DOCUMENTACION REQUERIDA	Nº MINIMO DE SUEROS O HISOPOS CLOACALES	VIGENCIA DE LA CONSTANCIA	PERIODO DE REMUESTREO
Progenitoras	A) Formato de inscripción.	35 sueros por parvada	10 meses	cada 3 meses
Reproductoras		35 sueros por parvada	10 meses	cada 3 meses
Pollo de engorda		10 sueros por cada 10,000 aves existentes en la granja.	12 meses	cada vez que ingrese un lote a la granja.
Postura comercial	B) Resultados serológicos negativos expedidos por un laboratorio aprobado.	10 sueros por cada 10,000 aves existentes en la granja.	12 meses	cada 3 meses
Aves de combate		35 hisopos cloacales por parvada o granja y un monitoreo de medio ambiente por hisopo de arrastre.	12 meses	cada 3 meses
Otras		La Secretaría determinará los requerimientos dependiendo de la especie.		

Causas de cancelación de las constancias:

- 1.- Falsificación de datos.
- 2.- Resultados de Laboratorio, no firmados por un M. V. Z. oficial o aprobado.
- 3.- Presentación de un brote de I.A. en la parvada o granja de constatada.
- 4.- Movilización de aves, productos o subproductos diferentes a la granja o parvada.