



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

MAESTRÍA EN MEDICINA VETERINARIA

**HISTORIA NATURAL DE LA INFLUENZA
AVIAR SUBTIPO A (H5N1). FASCÍCULO I.**

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN MEDICINA VETERINARIA

P R E S E N T A

JENNY DINORAH LOZANO ALVARADO

TUTOR:

RÁUL VARGAS GARCÍA

COMITÉ TUTORAL:

ELIZABETH LOZA RUBIO

GARY GARCÍA ESPINOSA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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

A mis padres: Juana y Salvador

Ustedes que son la fuerza que me mantiene siempre hacia adelante y que han sacrificado gran parte de su vida para educarme. Sabiendo que jamás existiría una forma de agradecerles el esfuerzo, les viviré eternamente agradecida. Los amo.

A mis hermanos

Sidney, Gina, Nancy, Kristal, Salvador. Quiero que sepan que cada uno ha influido en mi vida de manera constructiva y la meta alcanzada la comparto con ustedes. Gracias hermanos por su amor y comprensión durante los momentos más difíciles y felices de mi vida.

A mis sobrinos

Shanti, pequeña te agradezco la felicidad que sentí cuando te vi por primera vez como nueva integrante de la familia.

Axel y César gracias por recordarme que no es difícil sonreír.

Carlos

Camarada gracias por permitir caminar hombro a hombro por esta vida de constante lucha, por enseñarme a adquirir conocimientos y habilidades, que solo se aprenden día con día y que me han ayudado a valorar la vida.

AGRADECIMIENTOS

A la U.N.A.M por darme la oportunidad de alcanzar este logro profesional.

A mis tutores:

Dr. Raúl Vargas García.

Dra. Elizabeth Loza Rubio.

Dr. Gary García Espinosa.

A todos ellos por el apoyo, confianza y por todas las facilidades para la realización de este trabajo.

Al Jurado Calificador por las observaciones hechas a este trabajo para mejorarlo.

A la Dra. Alejandra León Cruz.

Por la amistad mostrada hacia mi persona y por el interés para mi desarrollo profesional en el campo de la epidemiología.

ÍNDICE

Resumen	1
INTRODUCCIÓN	3
Antecedentes	5
Cronología	6
PERIODO PREPATOGÉNICO	8
El agente	8
○ Reservorio y huésped	12
○ Ambiente	15
Nivel de prevención primaria	19
Promoción de la salud	20
Protección específica	21
Etapa subclínica	25
Mecanismo de transmisión	25
Periodo de incubación	26
PERIODO PATOGÉNICO	27
Signos	27
Cambios tisulares	28
Muerte y causas	29
Nivel de prevención secundaria	30
Diagnóstico Temprano	30
Horizonte Clínico	34
○ Diagnóstico diferencial	34
○ Control y erradicación	34

Nivel de prevención terciaria.....	40
○ compensación	40
Bibliografía.....	41
Anexos	54

RESUMEN

El objetivo de este trabajo es conocer la Historia Natural de la Influenza Aviar subtipo A (H5N1), haciendo énfasis en la dinámica de transmisión del virus, para hacer más efectivas las medidas de control. El subtipo IAAP (Influenza Aviar de Alta Patogenicidad) H5N1 ha causado un severo impacto sobre la producción avícola, salud pública, los insumos de los productores, la conservación de la vida silvestre y otros factores socioeconómicos en Asia, África y Europa. En 1996, el subtipo H5N1 mutó para convertirse en un subtipo viral IAAP. Asociada a este evento de mutación, la nueva cepa IAAP H5N1 demostró también su capacidad de infectar en sentido inverso a las aves migratorias facilitando su dispersión por Asia, Europa y África, siendo lo más grave la presentación de la enfermedad en los humanos; además de aumentar su virulencia en diferentes especies de mamíferos como felinos silvestres y gatos domésticos. Se han tomado diversas medidas de control para frenar la diseminación; sin embargo, con la excepción del continente Europeo y Japón, las medidas que se han tomado no han resultado en la eliminación del virus.

Palabras clave: Influenza aviar H5N1, Asia, epidemiología, control, vacunación.

ABSTRACT

The objective of this work is to know History Natural the Influenza Avian A subtype (H5N1), making emphasis in transmission dynamics of the virus, to make the measures more effective of control. Subtype HPAI (Influenza Avian de High Pathogenicity) H5N1 has caused a severe impact on the bird-raising production, public health, the consumptions of the producers, the socioeconomic conservation of the wild life and other factors in Asian, Africa and Europe. In 1996, subtype H5N1 changed to become a viral subtype HPAI. Associated to this event of mutation, new strain HPAI H5N1 also demonstrated its capacity to infect in inverse sense to the migratory birds facilitating its dispersion by Asian, Europe and Africa, being the most serious presentation of the disease in the humans; besides increasing to its virulence in different species from mammals like wild felines and domestic cats. Diverse measures have been taken from control to restrain the dissemination; nevertheless, excluding the European continent and Japan, the measures that have been taken have been in the elimination of this virus.

Key words: Avian influenza H5N1, Asian, epidemiology, control, vaccination.

HISTORIA NATURAL DE LA INFLUENZA AVIAR SUBTIPO A (H5N1)

INTRODUCCIÓN

El subtipo IAAP (Influenza Aviar de Alta Patogenicidad) H5N1 ha causado un severo impacto sobre la producción avícola, salud pública, los insumos de los productores, la conservación de la vida silvestre y otros factores socioeconómicos en Asia, África y Europa ^(1, 2). Este subtipo de IA (influenza aviar) reconocido en Escocia en 1959, circuló ampliamente entre aves silvestres como un subtipo viral IABP (Influenza Aviar de Baja Patogenicidad) sin causarles enfermedad. En 1996, el subtipo H5N1 mutó para convertirse en un subtipo viral IAAP ^(3, 4). Asociada a este evento de mutación, la nueva cepa IAAP H5N1 demostró también su capacidad de infectar en sentido inverso a las aves migratorias facilitando su dispersión por Asia, Europa y África, siendo lo más grave la presentación de la enfermedad en los humanos; además de aumentar su virulencia en diferentes especies de mamíferos como felinos silvestres y gatos domésticos ⁽³⁾. La influenza aviar es una enfermedad infecciosa, causada por un virus RNA ⁽⁵⁾, perteneciente a la familia Orthomyxoviridae, género *Influenzavirus tipo A* ⁽⁶⁾.

Se encuentra ampliamente distribuida en el mundo, particularmente entre las aves acuáticas migratorias incluyendo patos y gansos, siendo estos los reservorios naturales, y los responsables de afectar a las aves domésticas: gallinas, pollos, y pavos donde la morbilidad y mortalidad se puede presentar hasta en un 100% ^(5,7). Diversos estudios revelan que los virus de influenza subtipos H5 y H7 muestran baja patogenicidad, pero mutan inadvertidamente a alta patogenicidad, una vez que son introducidos en las aves domésticas ^(5,8). Los datos que se tienen hasta la fecha, concernientes a las infecciones a humanos, continúan en investigación; lo mismo ocurre con la epidemiología de la enfermedad en las aves silvestres acuáticas, que suelen ser los reservorios naturales y que han mostrado ser muy susceptibles a la enfermedad por virus IAAP (H5N1); y se ha demostrado también,

que las aves acuáticas domésticas principalmente los patos y los gansos se encuentran implicadas en la diseminación de virus H5N1 en las aves silvestres y consecuentemente la diseminación geográfica masiva ⁽⁵⁾. Las investigaciones indican que los virus de influenza aviar IAAP (H5N1) tiene propiedades fenotípicas y genotípicas diferentes en comparación con otros virus de IAAP, por lo que la epidemiología de la enfermedad ha tenido diversos cambios ⁽⁹⁾. El conocimiento e información de todas las especies que son susceptibles a la infección, incluyendo el periodo de incubación de las aves que pueden desarrollar una condición clínica, la habilidad para volar distancias significativas e infectar a través de la ruta que realizan, la duración y la carga de diseminación viral son datos que no se conocen a ciencia cierta, sólo se tienen hipótesis que se han formulado acerca de la eco-epidemiología ^(10, 11). Se han tomado diversas medidas para frenar la diseminación de virus IAAP H5N1 tales como: sacrificio sanitario, restricción en los movimientos de aves silvestres y ornato, vacunación, e implementación de medidas de bioseguridad; sin embargo, con la excepción del continente Europeo y Japón, las medidas que se han tomado no han resultado en la eliminación de estos virus, por lo que es necesario seguir investigando para conocer y dar seguimiento a la etiología de la enfermedad y poder controlarla eficientemente, previendo grandes pérdidas económicas en la avicultura (disminución de la producción de huevos y mortalidad de los animales), además de los problemas concernientes a salud pública. El virus IAAP H5N1 ahora amenaza seriamente, no sólo al Suroeste de Asia, sino también al resto del mundo, por lo que el objetivo de este trabajo es conocer la Historia Natural de la Influenza Aviar subtipo A (H5N1), haciendo énfasis en la dinámica de transmisión del virus, para hacer más efectivas las medidas de control.

ANTECEDENTES

El virus de influenza aviar A H5N1 fue detectado inicialmente en una granja de aves de corral de Escocia en 1959 ⁽⁴⁾. El virus IAAP H5N1 conocido como la cepa (A/Goose/ Guangdong/1/96) reapareció en Guangdong Provincia, China, en 1996, causando la muerte de gran cantidad de gansos, y aproximadamente la pérdida de 6500 pollos, pero no se le dio mucha importancia, sino hasta que se diseminó a través de mercados de aves vivas en Hong Kong donde inició la infección a humanos en mayo de 1997, muriendo 6 de 18 personas infectadas ^(12, 13, 14). De 1997 a mayo de 2005, los virus H5N1 se limitaron principalmente al Sureste Asiático, después de haber infectado a aves silvestres en el lago Qinghai, China, se extendió hacia el oeste de ese país ^(15,16). Desde 1997, los estudios de H5N1 indican que estos virus continúan evolucionando a través de los mecanismos de antigenicidad, teniendo una gama de huéspedes mucho más amplia ^(17, 18). Los países que han notificado brotes de IAAP H5N1, causando infección y muerte en miles de millones de aves son los que se enumeran enseguida en orden de aparición/brote: Corea, Vietnam, Japón, Tailandia, Camboya, Laos, Indonesia, China, Malasia, Rusia, Kazajstán, Mongolia, Turquía, Rumanía, Croacia, Ucrania, Chipre, Irak, Nigeria, Egipto, India, Francia, Níger, Bosnia, Azerbaiyán, Albania, Camerún, Myanmar, Afganistán, Israel, Pakistán, Jordania, Burkina Faso, Alemania, Sudán, Costa de Marfil, Djibuti, Hungría, Reino Unido, Kuwait, Bangladesh, Arabia Saudita, Ghana, República Checa, Togo y Nepal. Sin embargo, el virus de IAAP se ha encontrado en otros países: Austria, Bulgaria, Dinamarca, Grecia, Irán, Italia, Polonia, Serbia y Montenegro, Eslovaquia, Eslovenia, España, Suecia, Suiza. Los hallazgos más importantes sobre los casos en aves afectadas por influenza aviar A H5N1 se describen en la cronología ⁽¹⁹⁾ (Figura 1)

Figura 1. Diseminación del virus H5N1 en el año 2009.



CRONOLOGÍA

Escocia, **1959**. El virus causó brotes en varias granjas y cuantiosas pérdidas económicas en pollos.

Inglaterra, **1991**. Brotes en granjas de pavos.

Guangdong China, **1996**. Se detectó el precursor de los virus IAAP en humanos y brotes con mortalidad de gansos.

Hong Kong, **1997**. 18 personas fueron infectadas y 6 murieron en el primer caso conocido de infección por virus IAAP H5N1 humanos. El 28 de diciembre al 29 de diciembre del mismo año 1.3 millones de pollos murieron y se suspendió la importación de pollos.

Fujian China, **2003**. Reapareció el virus causando la infección de una familia y dos personas.

Tailandia, **2003**. Muerte de tigres en un zoológico, los cuales fueron alimentados con cadáveres de pollos infectados.

Vietnam y Tailandia, **2004**. En aves de corral, extendiéndose rápidamente a diez países y regiones de Asia incluyendo: Indonesia, Corea del Sur, Japón y China. Se descubrió que el virus es mucho más peligroso porque se aisló de las aves acuáticas particularmente patos a otras especies aviares.

Vietnam, **2005**. Brote que afectó a treinta y tres provincias, provocando el sacrificio de 1.2 millones de aves de corral, sumando un aproximado total de 140 millones de aves muertas y sacrificadas. En abril del mismo año comienza la muerte de más de 6,000 aves migratorias en el lago de Qinghai, China. Se extendió el virus hasta Kazajstán, Mongolia, Rusia Turquía, Croacia, Rumania y Kuwait.

India, Norte de África y Europa, **2006**. Brotes en las aves silvestres. El número de muertes de aves se registraron en los países: Camboya, China, Laos, Nigeria, Tailandia, Indonesia, Egipto y Sudán.

Hungría, Rusia, Reino Unido, Bangladesh, Arabia Saudita, Ghana, Alemania, Malasia, República Checa, Togo, Francia, **2007**. Casi todos estos países experimentaron un primer brote aviar.

Ministerio de salud de China, **2008**. Se confirmó la muerte de un joven a causa de la infección por el virus en la provincia de Hunan. En Hong Kong se encontró el virus en un mercado de aves de corral en Sham Shui Po, se sacrificaron 2700 aves y se decretó una norma en donde los comerciantes que no vendan las aves vivas antes de las 8:00pm serían sacrificadas.

Nepal, **2009**. Experimentó brote y como consecuencia se dio la muerte de un joven, un hombre y un niño.

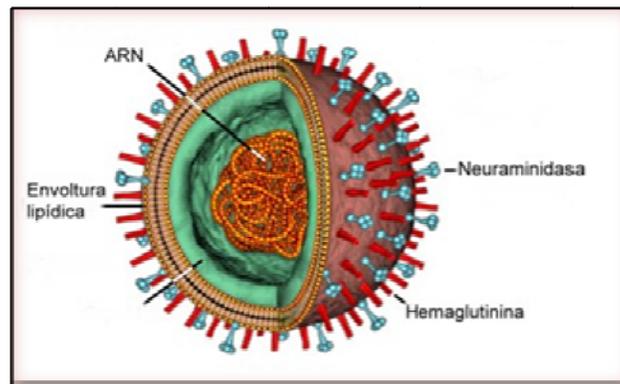
La situación mundial de la IAAP H5N1 ha mejorado, pero se siguen reportando casos de influenza aviar en países emergentes, debido a la falta de vigilancia epidemiológica y/o implementación de medidas de bioseguridad para los diferentes sistemas de producción avícola.

PERIODO PREPATOGÉNICO

EL AGENTE

El virus de IAAP H5N1 pertenece al género de los virus de influenza tipo A, de la familia Orthomyxoviridae. El material genético se compone de una sola cadena lineal de ARN en sentido negativo, dividida en 8 segmentos que son pleomorfos de simetría helicoidal con proyecciones de dos glicoproteínas en su superficie, la Hemaglutinina (H5) y Neuraminidasa (N1) ^(5, 6, 9, 20). La HA y NA son las principales determinantes antigénicas del virus ^(3,9). (Figura 2)

Figura 2. Estructura viral.



Fuente: <http://juanat.wordpress.com/tag/gripe-a/>

Evolución de las cepas H5N1

En la naturaleza existen dos subtipos de virus de influenza aviar tipo A H5. Las cepas IAAP, H5N1 de “linaje asiático” y IABP H5 se le conoce como “cepa América del Norte” ⁽²¹⁾ la presentación de esta última, ocurre comúnmente en las aves silvestres; en la mayoría de los casos la enfermedad no manifiesta signos visibles, esta cepa no se ha identificado como causa de enfermedad en humanos. La preocupación que mantiene en alerta es la posibilidad de transmisión de esta cepa a las aves de corral se debe a que es un virus IABP subtipo H5 con la característica para mutar a una cepa de alta patogenicidad ^(22, 23) La cepa asiática

IAAP A H5N1, es la causante de infecciones en humanos en Asia, sin embargo no se tienen datos contundentes de este tipo de transmisión, es importante estar en alerta con los cambios antigénicos que presenten estos virus, con la probabilidad de adquirir capacidad para la transmisión eficiente de humano a humano ^(24,25,26).

Virulencia y perfil genético

Desde el año 2001 las cepas gripales aviarias tipo A subtipo H5N1 se han mantenido en constante circulación en Asia, con un patrón estacional de picos máximos en octubre y marzo, cuando la temperatura ambiental está por debajo de 20°C. Durante el año 2000 las cepas H5N1 se aislaron exclusivamente de las aves acuáticas, sin embargo, a partir del 2001 se pudieron aislar tanto de las aves silvestres como de las aves domésticas, aunque la tasa de aislamiento permaneció mucho más alta en las aves silvestres (ánades) ⁽²⁷⁾.

Los análisis filogenéticos de las cepas IAAP H5N1, a partir de ese año mostraron que tienen distinto origen; así, la línea genética Goose/Guangdong/1/96, causante de la epidemia humana en 1997, se originó por recombinación del gen de la HA de un virus de ganso H5N1, del gen de la NA de un virus H6N1 de un ave silvestre de la región y de los genes internos de un virus de codorniz H9N2, de forma que la alta patogenicidad de este nuevo virus asoció la presencia de una serie de aminoácidos básicos adyacentes al sitio del corte de la HA, dando lugar a los diversos subtipos genéticos que se describen a continuación ^(28, 29, 30). Seis genes proceden filogenéticamente de múltiples orígenes, con diferente intercambio genético (reordenamiento). Los virus H5N1 han mutado constantemente, esto conlleva a que exista una gran variedad de cepas con diferente perfil genético, por lo que en algunas especies las cepas que son muy patógenas en otras pueden no serlo; esto se lleva a través del cambio drift (cambio menor antigénico), mutando en varias ocasiones a virus IAAP y se han denominado como aislamientos específicos pertenecientes al genotipo Z del virus de la influenza aviar H5N1 que se encuentra endémico hasta la fecha en algunos países de Asia ^(31, 32, 33,34, 35, 36).

Hasta el año 2001 se habían aislado y caracterizado seis reordenamientos o genotipos H5N1, correspondientes a los genotipos A, B, C, D, E, y X₀^(34, 35, 37, 38, 39, 40) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Evolución de los genotipos de las cepas H5N1 aviarias en Asia.

Evolución de los genotipos de las cepas H5N1 aviarias en Asia	
Año	Genotipo
1999	Gs/Gd
2000	Gs/Gd, C
2001	A, B, C, D, E, y X ₀
2002	Z, Z ⁺ , Y, B, W, X ₀ -X ₃
2003	Z, Z ⁺ , V
>2004	Z

(Fuente: Ortiz de Lejarazu. JR. 2005. Mecanismos de Patogenicidad y adaptabilidad)

Desde enero del 2002, el genotipo Z, se ha convertido en el sur de China como el genotipo dominante en las cepas aviarias H5N1, tanto en aves silvestres como en domésticas. Así como también, las cepas IA H5N1 causantes de brotes aviarios a finales de 2003, 2004 y 2005 en Indonesia, Tailandia, Camboya y Vietnam han demostrado su pertenencia a este genotipo^(34,35, 37, 38, 39, 41, 42).

La cepa de linaje asiático IAAP H5N1 se divide en dos subtipos antigénicos:

- Subtipo 1, se ha aislado de humanos, aves de Vietnam, Tailandia, Camboya, Laos y Malasia^(39,34, 42).
- Subtipo 2, se identificó por primera vez en aislamientos de aves de China, Indonesia, Japón, y Corea del Sur, antes de extenderse hacia el Oeste hasta el Medio Oriente, Europa y África. Este último subtipo ha sido la principal causa de infección en humanos por virus H5N1^(39, 43).

El perfil genético del subtipo 2 a su vez, identifica seis subtipos, tres de los cuales se encuentran ligados a infecciones humanas:

- Subtipo 1, Indonesia,
- Subtipo 2, Europa, Oriente Medio y África.
- Subtipo 3, China⁽³⁹⁾.

El genotipo Z puede no estar adaptado completamente a los patos, por lo que pudiera seguir evolucionando a través de mutación y/o recombinación hasta adaptarse totalmente ^(38, 44, 45).

Patogenicidad

La patogenicidad del virus de influenza aviar es extremadamente variable y se basa en las características del subtipo de baja o alta patogenicidad. El tropismo es la atracción que tiene un virus para dirigirse a un tejido u órgano del huésped; los virus cuyo tropismo está restringido al tracto intestinal o al respiratorio son denominados virus de baja patogenicidad; los virus con tropismo sistémico, como en el caso de IAAP H5N1, se dirigen a órganos vitales. Sólo los virus de influenza aviar de los subtipos H5 y H7 demuestran potencial para ser altamente virulentos, un virus H5 o H7 se puede presentar como de baja patogenicidad pero mutar sin advertir para convertirse a un virus de alta patogenicidad, usualmente una vez que se introducen en una parvada de aves domésticas, particularmente pollos y pavos. Los subtipos H5 y H7 pueden establecer linajes en las aves y producir una enfermedad inaparente, la cual puede complicarse por infecciones secundarias ⁽⁵⁾. Para los virus IAAP, la infección se establece por la capacidad enzimática del organismo huésped para realizar un corte proteolítico en la HA que es la determinante de virulencia del virus, al darse este corte, el sitio de unión de HA se manifiesta y puede con ello formar un puente entre la membrana celular del organismo huésped y la envoltura viral, lo que permite la penetración de la nucleocápside (información genética viral) a la célula, y con ello, darse la infección ^(46, 47).

Susceptibilidad e inactivación del virus

Los virus de influenza aviar, son relativamente sensibles a diversos agentes químicos y físicos.

Inactivación física:

- 56°C por 15 minutos.
- 60°C por 5 minutos.
- No es estable por debajo de pH 5.0 ⁽⁴⁸⁾.

En el anexo 1, se describen en detalle los agentes químicos y la forma de uso para la inactivación de los virus de IA ⁽⁴⁹⁾.

En condiciones de campo los virus de influenza son liberados en las secreciones respiratorias y en las heces de las aves infectadas; estas excreciones protegen al virus y dificultan su inactivación, por lo que se requiere en primer lugar eliminar de las instalaciones y equipo este material, posteriormente se procede al lavado y como tercera acción la desinfección.

RESERVORIO Y HUÉSPED

Las aves silvestres acuáticas del orden Anseriformes (patos, gansos, cisnes) y Charadriiformes (gaviotas, golondrinas de mar y aves zancudas) son los reservorios naturales de los virus de influenza aviar. Los Anseriformes y Charadriiformes se encuentran distribuidos globalmente, excepto en regiones áridas ^(50, 51, 52). De todas las especies de aves acuáticas silvestres, el pato Mallard (*Anas platyrhynchos*) es el más abundante de Eurasia y Norte América ^(53, 54), tan solo en China la población de patos domésticos mallards es de casi 700 millones ⁽⁵⁵⁾; así mismo, de esta especie es de donde se han aislado todos los subtipos de IA. Por lo que el pato Mallard es un factor de riesgo esencial de la cadena epidemiológica de la IAAP H5N1 ^(56, 57, 58). (Cuadro 2). Los 16 subtipos de virus de influenza tipo A son prevalentes en las aves silvestres, donde coexisten en

armonía sin presentar signos de enfermedad. El equilibrio benigno entre los virus de influenza y sus reservorios naturales incluyen los subtipos H5 y H7; sin embargo, en recientes eventos se demostró que el equilibrio se ha roto ^(38, 56). La patobiología de los virus H5N1 en los patos empezó a cambiar en el año 2001 mostrando muchas variaciones en su patología y letalidad. En el año 2002 los brotes por virus IAAP H5N1 en dos parques de Hong Kong (Kowloon Park y Penfold Park) causaron la muerte de varias especies de aves silvestres incluyendo las acuáticas. Experimentalmente estos virus causaron infección sistémica en patos, con títulos altos de carga viral y patología en múltiples órganos, particularmente en el cerebro; asimismo, en otros estudios, los virus IAAP H5N1 se aislaron de carne de pato importada de Japón a China, y también se observaron signos neurológicos, pero no se observó mortalidad. En varios aislamientos realizados en los años 2003 y 2004 experimentalmente, se indujo la mortalidad de patos silvestres ^(59,60).

El conocimiento de las características biológicas y genéticas de los virus H5 de las aves silvestres provee datos acerca de la biología y la ecología y/o de los virus, que permiten, conocer los mecanismos de transmisión y diseminación de los virus a través de las aves silvestres ^(9,61).

Los subtipos H5 y H7 de IAAP son letales para las aves domésticas principalmente pollos y pavos ⁽⁵⁹⁾. Los virus IAAP H5N1, han traspasado la barrera inter-especie, dando como resultado una amplia gama de hospederos. En hospederos experimentales: pequeños mamíferos, (ratones y hurones) se ha demostrado que son muy susceptibles, debido a que los virus se diseminan sistémicamente después de la inoculación intranasal produciéndoles la muerte ^(38,62).

CUADRO 2. PREVALENCIA DE LOS VIRUS DE INFLUENZA TIPO A H5N1 EN LAS AVES SILVESTRES

FAMILIA	ESPECIE	MUESTRA (n)	POSITIVOS	NEGATIVOS
PATOS	36	34,503	3,275	9.5
GANSOS	8	4,806	47	1.0
CISNES	3	5,009	94	1.9
GAVIOTAS	9	14,505	199	1.4
GOLONDRINAS DE MAR	9	2,521	24	0.9
AVES ZANCUDO	10	2,637	21	0.8
CORMORANES	1	4,500	18	0.4

(Fuente: Fouchier RA, Munster VJ, Keawcharoen J, Osterhaus AD, Kuiken T. Virology of avian influenza in relation to wild birds. 2007)

En Tailandia los virus H5N1 causaron infecciones fatales en leopardos y tigres, especies consideradas resistentes a la enfermedad por virus de influenza tipo A (38, 63, 64, 65)

Antes de 1997 no había evidencia convincente de infección del virus de influenza del subtipo H5 a humanos, sin embargo múltiples aislamientos reportaron que la infección a humanos se produjo a partir de la manipulación de aves infectadas. (Anexo 2). Aunque cuando se ha presentado infección en humanos, los datos que se tienen a la fecha han mostrado que aún no hay mecanismo de transmisión eficiente de humano a humano ⁽³⁸⁾. Si los virus H5N1 llegarán a adquirir la capacidad de transmisión eficiente de humano a humano, serían potencialmente letales ⁽³⁸⁾

Los estudios serológicos en cerdos como posibles hospederos intermediarios indicaron un bajo porcentaje de cerdos en Vietnam (0.25%). Así mismo, la continua vigilancia epidemiológica reportada de forma semanal en Hong Kong desde el año 2000, no provee evidencia de H5N1 en cerdos. La infección experimental y estudios de transmisibilidad revelaron que los cerdos pueden

infectarse con virus H5N1, pero no mostrar signos de enfermedad o transmitirla a cerdos con el mismo aislamiento ⁽¹²⁾.

AMBIENTE

Distribución

Los virus de influenza aviar son cosmopolitas; su distribución se encuentra ligada a la localización de las especies domésticas y silvestres, las rutas migratorias, las estaciones del año y la cercanía con las unidades de producción avícola ⁽¹¹⁾.

Los virus IAAP H5N1 comenzaron a diseminarse en las aves de corral en el sureste de Asia en el 2003, de esa fecha al 2008, se propagaron a las aves silvestres en otras regiones de Asia, así como partes de Europa, el Pacífico, el Medio Oriente y África; aunque algunos países han erradicado el virus de sus aves domésticas, esta epidemia continúa y la erradicación en todo el mundo no se espera a corto plazo ⁽⁶⁶⁾.

La persistencia de los virus de influenza se encuentra relacionada con los siguientes factores de riesgo:

➤ Bioecológicos

Las aves infectadas por virus de IAAP H5N1, excretan grandes cantidades de virus en las heces y pueden sobrevivir en éstas un periodo aproximado de 35 días a 4°C. Asimismo, los virus tienen la característica de permanecer infectivos por largo tiempo en tejidos de aves enfermas ^(67, 68). En el agua el virus sobrevive un periodo de cuatro días a 22°C y más de 30 días a 0°C, por lo que la congelación es el ambiente donde se mantienen por tiempo prolongado ^(68, 69). Los lagos y estanques proveen el mecanismo para que año con año subsistan los virus de influenza en hábitats de aves acuáticas ^(70, 71). Cabe mencionar que los virus difieren en su capacidad para permanecer infectivos y su persistencia depende por ejemplo entre otros factores de la temperatura del agua, pH y salinidad ⁽⁷²⁾.

- Migración. La migración de las aves silvestres como modelo de la diseminación de la infección siguen siendo poco conocidas ⁽⁶⁶⁾. Debido a esto, los antecedentes acerca de la epidemiología de las aves silvestres y las rutas migratorias ha ocasionado diversos debates y cuestionamientos que requieren ser contestados con claridad ^(73, 74).

Existen cinco rutas migratorias importantes que emprenden las aves silvestres:

- 1) Atlántico /Este.
- 2) Mar Negro/ Mediterráneo.
- 3) Próximo Oriente/África Occidental.
- 4) Asia Central/India.
- 5) Extremo Oriente/Australasia ^(75, 76, 77).

La migración es la estrategia común para que las aves estacionalmente ocupen distintos hábitats que van desde movimientos locales a intercontinentales. Las aves realizan frecuentes escalas durante la migración y ocupan mucho tiempo comiendo y preparándose para las migraciones activas desarrollando largos viajes; distintas especies se encuentran congregadas en los sitios de hibernación, resultando en densidades locales muy altas; tales sitios pueden ser muy importantes para la transmisión de los virus de influenza entre aves acuáticas silvestres y domésticas. Por ello las rutas migratorias pueden jugar un papel importante en la entrada y difusión de IA ^(51,58, 70 ,71, 74, 78, 79, 80, 81). Un acercamiento de esta aseveración es el reporte de los brotes causados por virus H5N1 en Japón en enero del 2007, sugiriendo que las aves migratorias podrían ser intermediarias en la diseminación de los virus IAAP H5N1 en el Sur de Corea y Japón, como ocurrió en el 2003, porque estos dos países tienen en común rutas de las aves migratorias ⁽⁸²⁾.

➤ Práctica agrícola.

Las prácticas de granja y ambientes agroecológicos (humedales, tanto naturales como artificiales) ⁽⁴⁾, constituyen un sitio de especial importancia para la circulación y evolución de los virus de influenza aviar, por lo que se debe considerar:

- La alta densidad de aves susceptibles de distintas especies que se congregan en estos sitios que asegura una tasa alta de contacto entre infectados y susceptibles.
- Los virus persisten en el agua dulce, y la ruta fecal-oral parece ser su principal forma de transmisión.
- El agrupamiento de especies diferentes hace posible la co-infección con varias cepas y el intercambio viral entre distintos hospederos, favoreciendo de esta manera la evolución del virus y la emergencia de nuevas variantes antigénicas ^(71,78).

En el suroeste de Asia la intensificación de los sistemas de agricultura provee hábitats necesarios y recursos alimentarios para los patos domésticos y las aves acuáticas silvestres migratorias para interactuar y potencialmente transferir la infección durante los meses de otoño-invierno ^(58, 83, 84). Los análisis geo-espaciales de brotes por virus de IAAP en Tailandia corroboraron los resultados debido a que la distribución espacial de brotes de IAAP en pollos y patos está fuertemente asociada con el libre pastoreo de los patos donde existen múltiples sistemas de arrozales ^(85, 86), dando como resultado la concentración e interacción entre aves silvestres y aves domésticas.

➤ Comercio de aves.

Los análisis filogenéticos y epidemiológicos demuestran que los mercados de aves vivas en Hong Kong son la principal fuente de infección: el 20% de las aves resultaron positivas al virus ^(1, 68, 70). Los mercados de aves vivas son amplificadores y reservorios de la infección y seguramente juegan un papel importante en el mantenimiento y diseminación del virus; sin embargo, otros

factores han hecho difícil el control en Asia como la crianza de las aves de traspatio y gallos de pelea, práctica común; puede indicar que estas aves también pueden participar activamente en el mecanismo de infección y diseminación, de modo que podrían estar estrechamente relacionados con la transmisión de los virus a humanos ^(41,87,88).

Con base en las características descritas de la triada epidemiológica de los factores de riesgo implicados en la IAAP H5N1, es necesario detallar las medidas de prevención primaria que se requieren para limitar el factor desencadenante que conlleve a la siguiente fase de la historia natural de la enfermedad (periodo patogénico).

El siguiente capítulo: “Nivel de Prevención Primaria”, define cada una de las acciones de sanidad que se han llevado a cabo en los países que sufrieron la ocurrencia de brotes de IAAP H5N1 y que han logrado erradicar la enfermedad. Se citan también las acciones que se están ejecutando en los países donde la enfermedad permanece endémica. Con la descripción de este apartado se concluye la primera etapa de la Historia Natural de la Enfermedad.

NIVEL DE PREVENCIÓN PRIMARIA

Las medidas de prevención primaria se practican en el periodo prepatogénico de la historia natural de la enfermedad.

Desde la reciente panzootia de IAAP H5N1 en el 2003, con diseminación subsecuente de Asia a Europa, el Norte y Este de África en el 2005 y 2006, causando mortalidad elevada en parvadas de aves domésticas y por consiguiente grandes pérdidas económicas.

Organismos internacionales como: FAO (Organización para la Agricultura y la Alimentación, por sus siglas en inglés) y la OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal) y otras más, concernientes en la seguridad del sustento y el desarrollo de comunidades, han diseñado estrategias para prevenir la diseminación de la enfermedad a través de diversas acciones, particularmente porque se encuentra involucrada la salud humana, con amenaza de pandemia.

La comunidad científica tiene un papel importante en la planeación, prevención, control y erradicación de los virus IAAP, y el adecuado manejo de los brotes ⁽¹⁵⁾. Es importante resaltar que las estrategias a implementar deben tomar en cuenta criterios importantes como los que a continuación se describen:

- La epidemiología de la enfermedad (métodos de la diseminación de la enfermedad y las especies afectadas)
- Factores ambientales (la presencia de barreras naturales).
- Medidas de bioseguridad (control de movilización, uso de límites naturales y artificiales, manejo comercial y prácticas de agricultura).
- Vigilancia de la enfermedad.

Es importante señalar que las medidas de prevención que describen tales manuales, han dado resultados satisfactorios, teniendo en cuenta lo siguiente:

- La situación actualmente en China ha mejorado, los brotes se encuentran limitados en ciertas áreas del país.
- El progreso es satisfactorio en Tailandia y Vietnam, donde la incidencia de brotes en las aves domésticas e infecciones humanas se han reducido.
- Indonesia sigue luchando con el apropiado establecimiento de mecanismos para el control de IAAP, sin embargo dichos sistemas aun se siguen perfeccionando.
- Pakistán, India, Afganistán, República de Corea y Japón, han experimentado brotes que fueron controlados, sin embargo la reintroducción de la enfermedad ha ocurrido en algunos de estos países.
- Asia Central, Este de Europa, Hungría y Turquía han eliminado la enfermedad.
- Países de África como: Egipto y Nigeria atraviesan por desafíos substanciales en la realización del control eficaz de IAAP, y necesitan del apoyo internacional, debido a que la enfermedad es endémica, por lo que representan un riesgo alto tanto para la perpetuación de la enfermedad, y de la emergencia de cepas virales con potencial pandémico ⁽⁸⁹⁾.

El nivel de prevención primaria comprende dos estadios de aplicación: promoción de la salud y protección específica.

➤ *Promoción de la salud:*

- Educación para la salud, medidas cuyo objetivo es el de divulgar las características de la IAAP para que los pequeños avicultores, técnicos pecuarios y veterinarios, reconozcan la enfermedad en el campo y de inmediato la notifiquen a la autoridad de los servicios veterinarios locales.
- Instalaciones adecuadas para las unidades de producción avícola, atendiendo a las recomendaciones zootécnicas y de bienestar animal.

➤ *Protección específica.* Comprendida como toda barrera o acción cuyo objetivo es evitar el contacto del agente de la enfermedad con el huésped. La protección específica incluye:

- Desinfección específica o inespecífica.
- Calidad del agua de bebida.
- Disposición adecuada de desechos orgánicos.
- Control de fauna nociva. De esta manera se reduce el contacto entre aves domésticas y animales infectados o lugares contaminados.
- En el caso del trabajador avícola o cualquier persona implicada en la explotación de aves, sin importar la escala de producción la protección específica incluye: el uso de guantes, cubrebocas, goggles, overol y botas, ya sea para el trabajo cotidiano en la granja y/o el manejo de animales enfermos, tratamiento y necropsias. Cualquier persona proveniente de un lugar donde hubiera aves enfermas puede transportar el virus en su ropa y calzado. Miembros de la familia: provenientes de lugares vecinos del mercado local, de comunidades aledañas. Intermediarios que llegan para comprar o vender aves pero también cerdos, ganado u otros productos agrícolas. Utensilios y equipos de granjas infectadas.
- Veterinarios y técnicos agropecuarios que llegan para realizar pruebas diagnósticas o la vacunación de los animales y que visiten otras granjas pueden transportar la infección. Ingreso de motocicletas, bicicletas u otros vehículos al patio de la granja.

Debido a que los virus pueden diseminarse por diferentes vías, y que en la fase inicial esta diseminación puede producirse de manera silenciosa, no existen casi momentos en que el riesgo de la enfermedad sea cero si se producen intercambios comerciales entre áreas o países afectados. Cuando se ha producido un brote de gripe aviar en una zona vecina, esto no significa que algunas granjas cercanas aún no estén infectadas. Las aves y los seres humanos pudieron haber viajado desde el área infectada a otras,

antes que la enfermedad sea detectada o que el brote haya sido considerado.

- Inmunización. La vacunación es una herramienta de gran importancia que se utiliza para reducir la presencia del virus, la susceptibilidad de los animales y la carga viral ^(5, 90, 91,92). La vacunación por sí sola no resultará en la eliminación de los virus H5N1 de un país, pero si se usa correctamente disminuirá la prevalencia y susceptibilidad a la infección ^(13, 41, 92). Ejemplo: en Italia la vacunación de las aves comerciales contra H5 y H7 en áreas de alto riesgo, en combinación con estrictas medidas de bioseguridad ⁽⁶⁶⁾

Uno de los problemas al vacunar es la selección de los virus de la influenza, lo cual podría eventualmente dar lugar a la evolución de aislamientos resistentes a la vacuna ⁽⁶⁶⁾, dando como resultado tasas endémicas y no en la erradicación ⁽⁹³⁾. Ejemplo de esta situación es la aplicación del protocolo de vacunación en México contra el subtipo H5N2 de IABP, desde 1994 hasta la fecha ⁽⁹⁴⁾.

Las pruebas comparativas han demostrado que algunas vacunas tienen poca efectividad, debido a que dichas vacunas previenen los signos de la enfermedad pero no la excreción viral, lo cual permite la reinfección ^(13, 41); asimismo, este tipo de vacunas complican la detección del virus de las granjas y de los mercados de aves vivas y promueven los cambios antigénicos drift ⁽⁴¹⁾.

La elaboración y el uso de las vacunas deben ajustarse a las condiciones específicas para su aprobación, dichas especificaciones se encuentran descritas en el Manual de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres de la OIE.

Tipos de vacunas aprobadas:

- Vacunas convencionales. Las vacunas usadas a la fecha, son las elaboradas a partir de líquido alantoideo infectado e inactivado ^(10, 5, 95).

Las vacunas producidas a partir de aislamientos implicados específicamente en una epizootia, o preparado de los virus que poseen el mismo subtipo de HA y que suministran grandes concentraciones de antígeno ^(92, 96).

Países que utilizan vacunas inactivadas en los programas de prevención, control y erradicación:

Vietnam: vacunas inactivadas H5N1 y H5N2 han sido usadas desde agosto del 2005 para el control de los virus de influenza. En el año 2006 solo hubo pocos brotes sospechosos reportados ^(35, 97).

China: vacuna inactivada, que contiene el subtipo viral H5N2 de IABP, aislada de pollos cepa A/Chicken/Mexico/232/94 (H5N2) ⁽³⁷⁾, se utilizó para el programa de vacunación en China ⁽⁹⁸⁾, y Hong Kong en brotes de los años 2002, 2003 y 2004 ^(90,99).

Japón: vacuna inactivada, emulsionada H5N9 derivada de A/turkey/Wisconsin/68 de IABP, que confirió protección en pollitos contra IAAP H5N1 ⁽⁹¹⁾.

- Vacunas recombinantes. Las vacunas recombinantes contra los virus IA contienen un gen insertado codificador de la HA del virus de IA en un vector del virus vivo; proporcionan inmunidad humoral y celular; pueden administrarse a aves jóvenes y lo más importante de estas vacunas es que se logra distinguir entre aves con virus de campo y aves con virus vacunal. El inconveniente de estas vacunas es que la inmunidad que confieren es limitada en aves que hayan estado sometidas a exposición natural al virus vector (Newcastle ⁽¹⁰⁰⁾, Poxvirus aviar y Laringotraqueitis). En aves de un día o en aves jóvenes disminuye la eficacia de la vacuna, debido al efecto de los anticuerpos maternos frente al virus vector ^(92, 96).

Recientemente se llevan a cabo investigaciones con vacunas utilizando sistemas de expresión del baculovirus para producir antígenos recombinantes H5 y H7 para incorporarlos a las vacunas ⁽⁹⁶⁾; Conjuntamente se llevan estudios ⁽⁹³⁾, acerca de una vacuna viva atenuada como un vector H5 del virus que promete la inmunización *in ovo*. Sin embargo presentan ventajas y desventajas que aun requieren de investigación.

La vacunación profiláctica debe considerarse cuando hay evidencia circunstancial que un área, compartimento o país se encuentren en riesgo de infección. El riesgo de infección se divide en dos categorías:

- Alto riesgo de infección con alguno de los subtipos virales H5 o H7. (vacuna bivalente H5 o H7).
- Riesgo de infección con un subtipo conocido (caso de IAAP H5N1 linaje asiático con vacuna monovalente ^(10, 92)).

Si bien la vacunación no es una solución definitiva para el control y erradicación de IA en las aves domésticas, ha sido una herramienta efectiva y complementaria a los programas de control y erradicación ⁽¹⁰¹⁾. (Anexo 3)

El estudio y revisión de los factores de riesgo y medidas preventivas de carácter primario, que se describieron en el periodo prepatogénico, permitirán entender las propiedades del agente, huésped y el ambiente; dichas características introducen al conocimiento y comprensión del proceso que se detalla en el siguiente capítulo denominado periodo patogénico (ciclo biológico de la enfermedad).

Etapa subclínica

Mecanismo de transmisión

Los elementos del ciclo de transmisión de IAAP H5N1 se conocen bien. El virus se transmite de ave a ave sin vectores intermediarios ⁽¹⁰²⁾. La transmisión de los virus de IA ocurre fácilmente; las aves infectadas excretan el virus a través de las secreciones respiratorias y heces. De esta manera el contacto directo entre aves infectadas y susceptibles permite la transmisión del virus. Las puertas de entrada del virus son la mucosa oral, respiratoria y ocular inclusive de lo que hay evidencia experimental ^(103, 104) que demuestra que las plumas pueden ser una fuente de infección, debido a que los virus de IA H5N1 podrían permanecer infectivos en las células epidérmicas de las plumas de los gansos y patos, sin embargo los datos aun siguen siendo confusos y no se sabe exactamente en qué medida la persistencia del virus en las plumas tenga que ver con la epidemiología de IA H5N1. Las aves que sobreviven a la infección excretan el virus durante aproximadamente diez días de forma oral por medio de los estornudos y por las heces, lo que facilita la propagación entre las aves domésticas vivas. En diversos estudios ⁽⁴⁴⁾, se demostró a nivel experimental que los patos mallard de 4 semanas de edad que se infectaron con una dosis 10^6 (EID₅₀) de cepas de virus aislados de IAAP H5N1 del 2003-2004, diseminaron el virus por un periodo de 17 días; además de que, muchos de estos patos no manifestaron signos de enfermedad, los resultados sugieren que algunas especies de patos silvestres particularmente los patos mallard, pueden ser vectores potenciales de IAAP H5N1 ^(41, 53, 71). La transmisión de los virus también se lleva a cabo de forma indirecta a través de objetos contaminados, heces, alimento, agua, equipo, jaulas, vehículos y ropa. Las personas que se encuentran implicadas en el manejo y comercialización de aves y sus productos en mayor medida suelen ser los responsables de transportar los virus de un lugar a otro ^(4, 28, 106, 107). Se han realizado estudios ⁽⁷⁰⁾, con diversos aislamientos de los virus H5N1, y los resultados muestran que se ha encontrado más carga viral en muestras traqueales que en heces, lo que apunta a que en algunas especies de aves, el principal medio de transmisión de estos virus ya no

sería la ruta fecal-oral. La razón de esto podría ser que comúnmente los virus de IABP se replican preferencialmente en el intestino, en cambio se ha demostrado que los virus IAAP H5N1 se replican principalmente en el tracto respiratorio lo cual corresponde a una alta excreción faríngea ⁽⁵³⁾.

Periodo de incubación

El periodo de incubación puede ser variable, desde pocas horas y hasta de tres días. La muerte puede ocurrir durante las 24 a 48 horas después de presentar los signos, esto depende de la dosis de virus, la vía de exposición y la susceptibilidad de la especie ^(108, 109).

A diferencia de los virus de IABP, que comúnmente causan infecciones asintomáticas, enfermedad respiratoria leve o disminución en la producción de huevos ⁽¹¹⁰⁾.

Los virus IAAP son muy virulentos, causando infecciones graves en algunas especies de aves y pasar desapercibidas en otras. Los signos clínicos son variables y dependen de la especie. Después de la transmisión, el virus penetra en las células del epitelio respiratorio de la tráquea, y se realiza la replicación viral intracelular con destrucción de las células ^(111, 112). Las infecciones por virus IAAP H5N1, en pollos y pavos, se caracterizan por extensa viremia; los virus se pueden detectar no sólo en el tracto respiratorio y entérico, sino también en órganos internos: bazo, páncreas, corazón, hígado, riñón, sistema nervioso, así como también en músculo y piel ^(113, 114).

PERIODO PATOGENICO

El periodo patogénico inicia con el establecimiento del agente y con el consecuente estímulo primario como reacción del huésped y comprende dos fases: la etapa subclínica: el periodo de incubación, replicación del agente, cambios tisulares y fisiológicos y la etapa clínica: signos, cronicidad, complicaciones y muerte.

Signos

Los virus IAAP producen enfermedad sistémica, severa y con alta mortalidad en pollos y otras especies galliformes. Los virus IAAP H5N1 también son letales para patos; a nivel experimental estos virus causan enfermedad sistémica, altos títulos virales y patología en varios órganos, particularmente de tipo neurológico. El nivel de replicación viral en los tejidos, especialmente en cerebro y corazón, determinan el cuadro clínico de la enfermedad y mortalidad en los patos ^(15, 59, 115), al igual que en los cisnes sordos (*Cygnus olor*) y cisnes grulla (*Cygnus cygnus*) infectados naturalmente por el brote en el año 2006 y que se encontraron muertos en el mar Báltico ^(61, 116).

Es importante reconocer que ninguno de los signos clínicos que a continuación se describen son patognomónicos de la enfermedad, ya que la mayor parte de la parvada muere súbitamente ^(70, 96, 108, 113).

Pollos, pavos y gansos:

- Sinusitis.
- Lagrimeo.
- Cianosis de la cabeza, cresta y barba.
- Edema de la cabeza.
- Diarrea verdosa a blanca puede presentarse en algunas aves.

Otros signos son:

- Anorexia (disminución consumo alimento y agua).
- Tos, estornudos, descarga nasal y oral acompañada de sangre.
- Desorden neurológico (somnolencia, ataxia, tortícolis, ambulación en círculos, convulsiones y muerte).
- Disminución de la producción de huevos, huevos deformes, pérdida de pigmentación y de frágil cascarón ⁽¹⁰⁸⁾.

Cambios tisulares y fisiológicos en pollos y pavos:

- Edema subcutáneo de la cabeza y el cuello.
- Secreción en narinas y cavidad oral.
- Congestión de la conjuntiva.
- Traqueítis hemorrágica.
- Petequias en toda la grasa abdominal, superficie serosa y peritoneo.
- Hemorragia en la mucosa del proventrículo, molleja y mucosa intestinal.
- Riñones congestionados y tapados con depósitos de urato.
- Ovarios hemorrágicos o degenerados, con áreas de necrosis ⁽¹⁰⁸⁾.

Las aves mueren de enfermedad aguda; las aves jóvenes pueden presentar o no lesiones ⁽¹⁰⁸⁾.

Cambios tisulares y fisiológicos en patos y cisnes:

- Gaviotas y patos se encontraron con múltiples hemorragias petequiales en ventrículo, cerebro y páncreas.
- Cisnes infectados naturalmente: necrosis y hemorrágicas multifocales en páncreas, esplenomegalia, hepatomegalia, meningoencefalitis, hemorragia del pericardio, congestión pulmonar y edema ^(61, 66, 70, 116).

Lesiones microscópicas en pollos:

- Inflamación del endotelio microvascular.
- Congestión sistémica.
- Hemorragias multifocales.
- Infiltración celular perivascular mononuclear y trombosis.

Los virus se replican eficientemente en el endotelio vascular de las células parenquimatosas, esta propiedad parece ser importante para la diseminación viral y la infección sistémica ⁽¹¹⁷⁾.

Los antígenos virales son encontrados en la necrosis de miocitos cardiovasculares, junto con células de otros órganos con cambios de necrosis e inflamación. El endotelio vascular juega un papel importante en la patogénesis de la infección por virus de influenza aviar ^(53, 70, 113, 117).

Muerte y causas:

- Los cisnes se han visto gravemente afectados por los virus H5N1 en Europa, en donde estas aves generalmente se encuentran muertas. La infección experimental y natural con virus H5N1 mostraron desorden neurológico y muerte súbita en algunos cisnes mudos ⁽⁶¹⁾.
- Gaviotas reidoras (*Larus atricilla*), gaviotas de cabeza café (*Larus brunnicephalus*) desarrollaron enfermedad neurológica grave ^(113, 118).

NIVEL DE PREVENCIÓN SECUNDARIA

Las medidas de prevención secundaria tienen como objetivo proveer una respuesta eficaz ante un foco de influenza aviar, dichas medidas comprenden dos etapas:

- 1) El diagnóstico temprano cuya finalidad es la de identificar al agente causal, para tomar acciones inmediatas que limiten el daño.
- 2) Las acciones específicas para el control o erradicación.

Es importante señalar que las medidas de prevención son legisladas y aplicadas por organismos internacionales como FAO y OIE, dichos organismos aprueban y publican las acciones para la prevención, control y erradicación IAAP H5N1 en Asia y otras zoonosis ^(23,119).

1) Diagnóstico

Debido a que los signos clínicos son variables, el diagnóstico sólo se puede considerar como presuntivo; Por ello el diagnóstico definitivo de infección por virus de IAAP, se realiza por medio de técnicas específicas, para el aislamiento y caracterización del virus.

Las muestras sospechosas de IAAP deben ser manejadas con estrictas medidas de bioseguridad y en laboratorios específicos, el Manual de Pruebas de Diagnóstico y Vacunas para los Animales Terrestres de la OIE, provee los reactivos y descripción de las técnicas ⁽⁹⁶⁾.

Se han aprendido numerosas lecciones sobre el control del brote de influenza aviar IAAP H5N1 en Asia. La detección temprana del virus previno el establecimiento de la enfermedad en varios países, principalmente Corea del Sur, Japón y Malasia. Sin embargo, en países como Vietnam, Camboya y algunas partes de China, donde se retardó la detección, al parecer por falta de

infraestructura para el diagnóstico y medidas de control eficaces, debido a esto la enfermedad es endémica en estos países ^(13, 83).

Muestras requeridas para las técnicas diagnósticas.

- Hisopos cloacales y orofaríngeos de aves muertas, así mismo, de tejidos de: tráquea, pulmones, sacos aéreos, intestino, bazo, riñón, cerebro, hígado y corazón.
- Hisopos cloacales y orofaríngeos de aves vivas ^(66, 96).

Aislamiento viral

El aislamiento viral es la técnica estándar de oro. Para el aislamiento del virus se utilizan embriones de pollo libres de patógenos específicos (SPF, por sus siglas en inglés), de 9 a 11 días de edad, inoculados por vía alantoidea ^(96, 120).

Técnica de Hemaglutinación.

Para demostrar que el virus se replicó, si es positiva a la hemaglutinación se prosigue con la identificación y confirmación del virus, debido a que otros agentes virales, también poseen actividad hemoaglutinante ⁽⁹⁶⁾.

Identificación de anticuerpos contra el virus.

✓ Pruebas serológicas:

- Inhibición de la hemaglutinación (IH). Técnica fácil y no requiere de equipo complejo ^(96, 121).
- Precipitación en gel agar (PGA). Técnica de proceso sencillo y confiable en suero de pollos y pavos. Es muy específica pero es de sensibilidad muy limitada. Se puede desarrollar en cualquier laboratorio con equipo básico. Pero no es muy confiable en aves silvestres acuáticas, ya que estas no producen precipitación de anticuerpos ^(96, 121).
- Inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA). Esta prueba requiere de laboratorios y equipo más complejo. Es altamente sensible, pero carece de especificidad ^(96, 121, 122, 123).

- Inmunofluorescencia. Técnica utilizada para detectar virus IAAP en heces frescas ^(121, 124).
- ✓ Técnicas moleculares:
 - RT-PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa-Transcripción en Reversa, por sus siglas en inglés). La confirmación del diagnóstico de IA, se puede obtener en poco tiempo (de 6 a 12 horas), la ventaja de esta prueba es que exhibe una sensibilidad igual o más alta que la prueba estándar de oro (aislamiento) y los resultados se obtienen en menos de un día ^(96,120, 125,126).
 - RRT-PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa-Tiempo Real, por sus siglas en inglés) Se realizó una investigación con ésta técnica de diagnóstico para identificar virus de IAAP H5N1 con muestras de carne; los resultados sugieren que es una técnica de procedimiento rápido y sencillo, que podría ser aplicable para el diagnóstico de aves ilegales o muestras de carne sospechosas a la infección ⁽¹²⁷⁾.
 - Anticuerpos monoclonales ^(96,121).
- ✓ *Evaluación de la Patogenicidad*

La evaluación de la patogenicidad puede medirse bajo los siguientes lineamientos:

- Se considera que un virus es de alta patogenicidad cuando al inocularse con una dilución 1:10 de fluido alantoideo o cultivo de tejidos libre de bacterias por vía intravenosa en ocho pollos de 4 a 8 semanas de edad, libres de patógenos específicos sea letal en 6, 7 o 8 pollos en un periodo de 10 de diez días o su secuencia de aminoácidos corresponda al sitio de corte en la hemaglutinina a la de los virus de alta patogenicidad ^(8, 23, 96, 124, 128).
- Índice de Patogenicidad intravenosa es la puntuación media por ave por observación durante un periodo de 10 días. Un índice de 3,00 significa que

todas las aves murieron (virus de alta patogenicidad) en 24 horas, y un índice de 0,00 (virus de baja patogenicidad) significa que ninguna ave mostró signo clínico alguno durante los 10 días del periodo de observación⁽⁹⁶⁾.

✓ *Tipificación y caracterización*

- Las técnicas moleculares (RT-PCR y RRT-PCR) son empleadas para detectar, tipificar y caracterizar cepas de IAAP, y se requiere de laboratorios de bioseguridad nivel 3, por lo que países con una inadecuada infraestructura no es aconsejable trabajar o manipular virus de influenza H5N1 por medio de éstas técnicas^(96, 99, 120, 121,129).

Es importante mencionar que las pruebas serológicas en esta época son suplementarias y se utilizan más en la vigilancia epidemiológica, debido a que las aves domésticas y silvestres en muchos casos mueren antes de desarrollar anticuerpos. Por lo que las técnicas moleculares son las que actualmente se están utilizando.

La caracterización genética y antigénica, así como la infección experimental han permitido conocer la naturaleza de los agentes causantes de los brotes. Las técnicas implicadas en la biología molecular de los virus son herramientas que pueden ser muy útiles^(120, 121).

En todos los casos, el aislamiento del virus se debe realizar siempre. La disponibilidad de gran colección de aislamientos de IA representa una cantidad invaluable de información para la comunidad médica, para obtener datos más contundentes sobre la ecología y epidemiología de estos virus^(10, 96).

HORIZONTE CLÍNICO

Diagnóstico diferencial

Las siguientes enfermedades deben ser consideradas para el diagnóstico diferencial de la IAAP:

- Enfermedad de Newcastle ⁽¹⁰⁸⁾.

Y con otras enfermedades que muestran edema de cresta y barbillas como:

- Cólera aviar y enfermedades septicémicas.
- Celulitis bacteriana de las crestas y barbillas ⁽¹⁰⁸⁾.

2) Control y erradicación

La confirmación IAAP a través del diagnóstico, exige medidas de control de forma inmediata, eficiente y en lo posible la erradicación, para lo cual en este apartado se describen las medidas de control dependiendo del estado de enfermedad.

Una vez que se ha confirmado la presencia de IAAP, se tiene notificar a las instancias oficiales, especialistas de salud pública y animal, para la toma de decisiones.

Mantener el estado de país libre en todo un territorio afectado por IAAP, es casi imposible debido a que existen diversos sistemas de crianza y comercio de aves, por lo que necesariamente se requiere del establecimiento de subpoblaciones de aves con estado sanitario diferente esta acción se denomina zonificación, que tiene como objetivo proveer las medidas de bioseguridad necesarias para prevenir infecciones de IAAP y garantizar la seguridad y continuidad del comercio de aves y sus productos si la enfermedad se encuentra presente en un país o zona, sin embargo para que la zonificación pueda ser efectiva requiere de que el país cuente con servicios veterinarios especializados, así como también colaboración entre el sector público y privado ^(10, 101, 124, 130).

En Asia la producción de aves es muy importante, y de esta actividad depende una parte de la alimentación y de la economía del país. Teniendo en consideración que la forma de crianza y comercio se realiza en distintas formas, por ejemplo: producción de aves a gran escala y con estrictos estándares de bioseguridad, así como crianza de aves a nivel de traspatio y comercio legal e ilegal de aves vivas en mercados locales donde no existen prácticas de sanidad, predominando así el riesgo de infección a humanos y mantenimiento de IAAP ^(71, 124, 131). Por lo que organismos internacionales encargados de la legislación y ejecución de los estándares de medidas de prevención, control y erradicación, definieron sectores basados en los diversos sistemas de producción de aves en Asia en el año 2004, con el fin de implementar las medidas de bioseguridad apropiadas en cada caso:

- Sector 1. Sistema de producción industrial en casetas cerradas con estándares definidos y operantes con alto nivel de medidas de bioseguridad para crianza, comercio de aves y sus productos.
- Sector 2. Sistema de producción de aves en casetas abiertas con medidas de bioseguridad en nivel moderado para la crianza y comercialización de aves y sus productos.
- Sector 3. Sistemas de producción de aves que pastan libremente y con un nivel bajo en las medidas de bioseguridad para la crianza, comercio de aves y sus productos. En este sector es común el comercio de aves vivas de origen doméstico y silvestre.
- Sector 4. Sistema de producción de aves de traspatio con un nivel mínimo o nulo en las medidas de bioseguridad. Este sector es caracterizado por el comercio a nivel local, de forma que la crianza es de aves con origen doméstico y silvestre ^(124, 131, 132).

Indicaciones para la definición de una zona o de un compartimento

- 1) Los factores que definen una zona o compartimento serán determinados y gestionados por veterinarios oficiales y todas las actividades serán publicadas oficialmente.
- 2) Los límites geográficos de una zona o compartimento serán determinados con base en fronteras naturales, artificiales y/o legales, y se comunicarán de forma oficial ⁽¹⁰⁾.
- 3) Detención de los movimientos de animales y sus productos si existe sospecha de la enfermedad o se ha confirmado a través de una investigación epidemiológica; posteriormente se deberá identificar el brote primario y la causa del brote.

Las zonas y compartimentos quedarán definidas de acuerdo al siguiente criterio:

- Área Infectada. Área con presencia de brote; la delimitación se determinará con base en los estudios epidemiológicos realizados, teniendo como referencia las características geográficas, barreras naturales o legales administrativas, teniendo en cuenta un radio de 1km. Las instalaciones infectadas estarán bajo cuarentena, todos los animales y materiales susceptibles de contaminación en esta área serán eliminados.
- Área Restringida. Zona con un nivel de riesgo considerable en la que no se descarta que puedan existir casos de infección aún sin detectar. Extendiéndose alrededor del foco hasta un radio de 1 a 5Km. Estos lugares infectados estarán sujetos a vigilancia intensa, control de movimientos y solo podrá haber movimientos mediante aprobación regulada.
- Área de Control. Área geográficamente extensa que se encuentre alrededor de una o varias áreas restringidas. La vigilancia y el control de movimientos serán menos intensos; los animales y productos podrán ser movilizadas con un permiso. El perímetro del área de control es una zona neutra entre el área restringida y el resto del país y el límite es de 2 a 10km del límite del

área restringida. Este tipo de área de control permite la continuidad segura de las actividades comerciales ^(108, 130).

Medidas de control aplicadas en una zona, compartimento o sector de una unidad de producción avícola:

- Sacrificio sanitario y despoblación es una de las estrategias de control eficaces destinadas a erradicar la enfermedad ⁽¹³³⁾. (Por ejemplo en Tailandia se aplicó la despoblación cuando se determinó mortalidad >1% en las aves de granjas o del 5% en aves de traspatio, por lo que todos los productos y materiales contaminados se eliminaron inmediatamente)^(13, 85, 99,124). Tener en cuenta el manejo y eliminación adecuados de los cadáveres, huevos, alimentos, plumas, y excretas ⁽¹²⁴⁾. (anexo 4).
- Considerar las vías de transmisión potenciales para la entrada y propagación de la IA dentro del compartimento y deberán someterse a estricto control y revisión. Dichos factores son: los movimientos de entrada y salida de aves, ingreso de aves silvestres a los sistemas de producción, fauna nociva (artrópodos, roedores u otros animales), control de acceso del personal que se encuentre en contacto con aves infectadas que entre y salga del compartimento sin apropiadas medidas de bioseguridad, vehículos, productos biológicos, equipos usados ^(134, 135).
- Movimientos de personas, vehículos o maquinaria deberán ser sometidos a un exhaustivo plan de desinfección ^(49, 135).
- La vacunación debe implementarse como estrategia alternativa, cuando no sea posible la despoblación total de los sistemas de producción avícola (por ejemplo el caso de países que se encuentran en vías de desarrollo: Vietnam, Tailandia y África) ^(1, 38, 124, 89).
- Vigilancia epidemiológica activa:
 - Monitoreo anual por los comités gubernamentales estatales en aves comerciales y traspatio.

- Muestreo oficial anual en todas las granjas del país y en casos de brotes sospechosos.
- Monitoreo de casos sospechosos en zoológicos, aves de combate y ornato.
- Constatación de granjas y parvadas libres o erradicación.
- Vigilancia epidemiológica pasiva:
 - Reporte de casos sospechosos a través de medios masivos de comunicación.
 - Investigación, toma de muestras y diagnóstico de laboratorio ^(119, 136).

La vigilancia activa y pasiva deberá implementarse en todos los sectores de producción ⁽¹²⁴⁾.

- La zona libre de enfermedad quedará establecida si se demuestra que los productos destinados al comercio internacional proceden de un sitio sin riesgos, por lo que se hace uso del siguiente criterio: que no se hayan presentado casos de enfermedad en dos periodos de incubación posteriores al último caso detectado ⁽¹³⁰⁾.
- Los veterinarios oficiales a cargo de la administración sobre el control de IA en una zona o compartimento deben garantizar un sistema adecuado de identificación y rastreabilidad de los animales, teniendo en cuenta el tipo de producción avícola, adecuando las medidas de bioseguridad y normativas que sean pertinentes para cada caso ⁽¹³⁴⁾.
- Todos programas de bioseguridad deben incluir en un registro anexo que tenga los siguientes datos: registros de la producción de la parvada, origen de los productos, resultados de la vigilancia epidemiológica, indicadores de morbilidad, mortalidad, terapia médica y programa de vacunación ^(124, 133, 134, 135).

Medidas que deberá realizar el resto del país:

- Estricta aplicación de las medidas de bioseguridad en las unidades de producción de aves a cualquier escala.
 - Establecer e incrementar la alerta sanitaria, exigiendo la notificación inmediata de cualquier caso de morbilidad y mortalidad.
 - Prohibir la venta de aves vivas, de pelea, ornato o cualquier tipo de ave.
 - Aplicar el sistema vigilancia epidemiológica y serológica que provea información acerca de la situación en las unidades de producción avícola
- (124)

NIVEL DE PREVENCIÓN TERCIARIA

Compensación

El nivel de prevención terciaria tiene como objetivo la rehabilitación y el proceso de indemnización por pérdidas económicas debidas al sacrificio de las aves que fueron positivas o sospechosas de IAAP.

La negociación de los aspectos socioeconómicos del control de la enfermedad con el diálogo hacia la comunidad para tratar la resolución a través de la compensación y rehabilitación por las pérdidas económicas ^(137, 138, 139, 140).

Las autoridades de salud pública deben apoyar y dar seguimiento a los países que se encuentren endémicos y/o en riesgo por virus de IAAP. Así mismo, debe haber consolidación de los servicios veterinarios y eliminación de deficiencias en estos servicios ⁽¹⁴¹⁾.

La compensación puede realizarse considerando los siguientes puntos:

- Contar con un proceso de registro de producción de aves.
- Pagar sólo por los animales sacrificados.
- Pagar oportunamente y a un nivel cercano a los valores de mercado.
- Asegurar que las personas con crianza de parvadas muy pequeñas también sean compensadas.
- Además de costear con dinero en efectivo, la otra forma de pagar es la de proporcionar aves de reemplazo.
- Proveer crédito a los propietarios para restablecer su producción avícola.
- Proporcionar a los avicultores servicios técnicos y veterinarios gratuitos para el restablecimiento de sus esquemas de producción ⁽¹⁰⁸⁾.

Cabe mencionar que la compensación es un tema que sigue en discusión, sin embargo, es preciso llegar a un acuerdo debido a que la compensación es una forma de motivar a los propietarios de las aves para que informen y notifiquen la presencia de casos de IAAP ^(92,137).

BIBLIOGRAFÍA

1. Tiensin T, Nielen M, Vernooij H, Songserm T, Kalpravidh, Chotiprasatintara S, *et al.* Transmission of the highly pathogenic avian influenza virus H5N1 within flocks during the 2004 epidemic in Thailand. *Journal of Infectious Diseases*. 2007; (196):1679-1684.
2. Newman G, Chen H, Gao GF, Shu Y, Kawaoka Y. H5N1 influenza viruses outbreaks and biological properties. *Cellular Research*. 2010; (20):51-61.
3. Osoreo PF, Cabezas SC, Gómez BJ, Vargas CM. Influenzas humana y aviar: amenaza de una pandemia humana. *Acta Médica Peruana* 2006; (23): 245-256.
4. Fang LQ, Vlas SJ, Liang S, Looman CW, Gong P, Xu B, *et al.* Environmental factors contributing to the spread of H5N1 avian influenza in Mainland China. 2008; (3). Artículo disponible en: <http://www.plosone.org>
5. Sorrell EM, Ramirez-Nieto GC, Gomez-Osorio IG, Perez DR. Genesis of pandemic influenza. *Cytogenetic Genome Research* 2007; (117):394-402.
6. ICTV (International Committee of Taxonomy of Viruses). 2002. Taxonomy and Index to Virus Classification and Nomenclature Taxonomic. Artículo disponible en: <http://www.ictvdb.rothamsted.ac.uk/Ictv/index.htm>
7. Okamatsu M, Saito T, Yamamoto Y, Mase M, Tsuduku S, Nakamura K, *et al.* Low pathogenicity H5N2 avian influenza outbreak in Japan during the 2005-2006. *Veterinary Microbiology*. 2007 ;(124):35-46.
8. Lee C, Swayne D, Linares J, Senne DA, Suárez DL. H5N2 avian influenza outbreak in Texas in 2004: the first highly pathogenic strain in the United States in 20 years? *Journal of Virology*. 2005; (79):11412-11421.
9. Spackman E, Swayne DE, Suarez DL, Senne DA, Pedersen JC, Killian ML *et al.* Characterization of low pathogenicity H5N1 avian influenza viruses from North America. *Journal of Virology* 2007; (81):11612-11619.
10. Capua I, Alexander DJ. The challenge of avian influenza to the veterinary community. *Avian Pathology*. 2006; (35):189-205.
11. Spackman E. The ecology of avian influenza virus in wild birds: what does this mean for poultry? *Poultry Science*. 2009; (88):847-850.
12. Shortridge KF, Zhou NN, Guan y, Gao P, Ito T, Kawaoka Y, *et al.* Characterization of avian H5N1 influenza viruses poultry in Hong Kong. *Virology* 1998; (252):331-342.
13. Sims LD. Lessons learned from Asian H5N1 outbreak control. *Avian Diseases*. 2007; (50):174-181.

14. Vanlenkamp TW, Harder TC, Giese M, Lin F, Teifke JP, Klopfleisch R, *et al.* Protection of cats against lethal influenza H5N1 challenge infection. *Journal of General Virology* 2008; (89):968-974.
15. Liu J, Xiao H, Lei F, Zhu Q, Qin K, Zhang X, *et al.* Highly pathogenic H5N1 influenza virus infection in migratory birds. *Science*. 2005; (309):1206.
16. Lipatov AS, Kwon YK, Sarmiento LV, Lager KM, Spackman E, Suarez DL. Domestic pigs have low susceptibility to H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses. *PLOS Pathogens*. 2008; (4):1-10.
17. WHO. Avian influenza A (H5N1) infections in humans. *The New England Journal of Medicine*. 2005; (353):1374-1385.
18. Li Y, Shi J, Zhong G, Deng G, Tian G, Ge J, *et al.* Continued evolution of H5N1 influenza viruses in wild birds, domestic poultry, and human in china from 2004 to 2009. *Journal of Virology*. 2010; (84):8389-8397.
19. Global Spread of Qinghai H5N1 Bird Flu By Migratory Birds. 2006. Artículo disponible en: http://www.recombinomics.com/News/05060601/H5N1_Qinghai_Global.html
20. Yu Z, Jin M, Xu X, Zhang R, Zhou H, Hu Q, *et al.* Development of a specific latex agglutination test based on a recombinant hemagglutinin protein to detect antibodies to H5 avian influenza viruses. *Avian Disease* 2006; (50):264-268.
21. Krauss S, Obert CA, Franks J, Walker D, Jones K, Seiler P, *et al.* Influenza in migratory birds and evidence of limited intercontinental virus exchange. *PLoS Pathogens*. 2007;(3):1684-1693
22. USDA (United States Department Agricultural). Avian influenza low pathogenic H5N1 vs. Highly pathogenic H5N1. 2007. Artículo disponible en:http://www.usda.gov/wps/portal/!ut/p/s.7_0_A/7_0_1OB?contentidonly=true&contentid=2006/08/0296.xml
23. Alexander DJ. Should we change the definition of avian influenza for eradication purposes? *Avian Diseases*. 2003; (47):976-981.
24. Ungchusak K, Auewarakul P, Dowell SF, *et al.* "Probable person-to-person transmission of avian influenza A (H5N1)". *N Engl J Med*. 2005; (352): 333–340.
25. Smith GJD, Fan XH, Wang J, Li KS, Qin K, Zhang JX *et al.* Emergence and predominance of an H5N1 influenza variant in China. *PNAS* 2006; (103):16936-16941.

26. Wu WL, Chen Y, Wang P, Song W, Lau SY, Rayner JM, *et al.* Antigenic profile of avian H5N1 viruses in Asia from 2002-2007. *Journal of Virology* 2008; (82):1798-1807.
27. Ortiz de Lejarazu JR. Mecanismos de patogenicidad y adaptabilidad humana de las cepas gripales aviarias A (H5N1). *Rev. Esp. Quimioterap.* 2005; (18):273-280.
28. Savy V. ¿Estamos a las puertas de una nueva pandemia de influenza? *Revista Química Viva.* 2004; (2):40-46.
29. Chen H, Li Y, Li Z, Shi J, Shinya K, Deng G, *et al.* Properties and dissemination of H5N1 viruses isolated during an influenza outbreak in migratory waterfowl in western China. *Journal of Virology.* 2006; (80):5976-5983.
30. Mukhtar M M, Rasool ST, Song D, Zhu C, Hao Q, Zhu Y, Wu J. Origin of highly pathogenic H5N1 avian influenza virus in China and genetic characterization of donor and recipient viruses. *Journal of General Virology.* 2007; (88):3094-3099.
31. WHO. Geneva Switzerland. Evolution of H5N1 avian influenza viruses in Asia. *Emerging Infectious Diseases.* 2005;(11):1515-1521. Artículo disponible en: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol11no10/05-0644.htm>
32. Kou Z, Lei FM, Yu J, Fan ZJ, Yin ZH, Jia CX, *et al.* New genotype of avian influenza H5N1 viruses isolated from tree sparrows in China. *Journal of Virology.* 2005; (79):15460-15466.
33. Wan XF, Chen G, Luo F, Emch M, Donis R. A quantitative genotype algorithm reflecting H5N1 avian influenza niches. *Phylogenetics.* 2007; (23):2368-2375.
34. Li KS, Guan Y, Wang J, Smith GJD, Xu KM, Duan L, *et al.* Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia. *Nature* 2004; (430):209-213.
35. Wan XF, Nguyen T, Davis CT, Smith CB, Zhao ZM, Carrel M, *et al.* Evolution of highly pathogenic H5N1 avian influenza viruses in Vietnam between 2001 and 2007. *Plos One.* 2008; (3):1-12.
36. Chen H, Deng G, Li Z, Tian G, Li Y, Jiao P, *et al.* The evolution of H5N1 influenza viruses in ducks in southern China. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2004; (101):10452–10457
37. Lipatov AS, Govorkova EA, Webby RJ, Ozaki H, Peiris M, Guan Yi, *et al.* Influenza: Emergence and control. *Journal of Virology.* 2004; (78): 8951-8959.

38. Webster RG, Hulse PD, Sturm RK, Guan Y, Peiris M, Smith G, *et al.* Changing epidemiology and ecology of highly pathogenic of avian H5N1 influenza viruses. *Avian Diseases*. 2007; (51):269-272.
39. Pappaioanou M. Highly pathogenic H5N1 avian influenza virus: cause of the next pandemic? *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases*. 2009; (32):287-300.
40. Kang HM, Jeong OM, Kim MC, Kwon JS, Paek MR, Cjoi JG, *et al.* Surveillance of avian influenza virus in wild birds fecal samples from South of Korea 2003-2006. *Journal of Wildlife Diseases*. 2010; (46):878-888.
41. Webster RG, Peiris m, Chen H, Guan Y. H5N1 outbreaks and enzootic influenza. *Emerging Infectious Diseases*. 2006; (12):3-8
42. Brown JD, Stallknecht DE, Berghaus RD, Swayne DE. Infections and lethal doses of H5N1 highly pathogenic avian influenza virus for house sparrows (*Passer domesticus*) and rock pigeons (*Columbia livia*). *Journal of Veterinary Diagnostic and Investigation*. 2009; (21):437-445.
43. Webster RG, Govorkova EA. Antigenic and genetic characteristics of H5N1 viruses and candidate H5N1 vaccine viruses developed for potential use as pre-pandemic. Artículo disponible en: http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/recommendationvaccine.pdf
44. Hulse PD, Sturm RK, Humberd J, Seiler P, Govorkova EA, Krauss S, *et al.* Role of domestic ducks in the propagation and biological evolution of highly pathogenic H5N1 influenza viruses in Asia. *PNAS*. 2005;(102). Artículo disponible en: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas>
45. Neumann G, Green MA, Macken CA. Evolution of highly pathogenic avian H5N1 influenza viruses and the emergence of dominant variants. *Journal of Genetic Virology*. 2010; (91):1984-1994.
46. Lucio E, Escorcía M, Rodríguez S. La influenza aviar ¿Una amenaza global? Tema: Influenza aviar, hoy. *Memorias del Precongreso Científico Avícola IASA*. 2006.
47. Shinya K, Makino A, Kawaoka Y. Emerging and reemerging influenza virus infection. *Veterinary Pathology*. 2010; (47):53-57.
48. OIE-OIRSA. Comisión Regional de la OIE para las Américas. Análisis de Riesgo. Guía Práctica. 2006.

49. Muhammad AS, Muhammad A, Hameed S, Hassan S. Avian influenza virus (H5N1); effects of physic-chemical factors on its survival. *Virology Journal*. 2009; (6). Artículo disponible en: <http://www.virologyj.com/content/6/1/38>
50. Brown JD, Swayne DE, Cooper RJ, Burns RE, Stallknecht. Persistence of H5 and H7 avian influenza viruses in water. *Avian Diseases*. 2007; (50):285-289.
51. Fouchier RA, Munster VJ, Keawcharoen J, Osterhaus AD, Kuiken T. Virology of avian influenza in relation to wild birds. *Journal of Wildlife Diseases* 2007; (43): 7-14.
52. Feare CJ. The role of wild birds in the spread of HPAI H5N1. *Avian Diseases*. 2007; (50):440-447.
53. Keawcharoen J, Riel D, Amerongen G, Bestebroer T, Beyer WE, Lavieren R, *et al*. Wild ducks as long-distance vectors of highly pathogenic avian influenza virus (H5N1). *Emerging Infectious Diseases*. 2008 ;(14):600-607
54. Latorre MN, Gunnarsson G, Munster VJ, Fouchier RA, Osterhaus AD, Elmerberg J, *et al*. Effects of influenza A virus infection on migrating mallard ducks. *Proc. R. Soc. B*. 2009; (276):1029-1036.
55. Newman SH, Iverson SA, Takekawa JY, Gilbert M, Prosser DJ, Batbayar N, *et al*. Migration of whooper swans and outbreaks of highly pathogenic avian influenza h5N1 virus in Eastern Asia. *PLoS ONE*. 2009;(4). Artículo disponible en: <http://www.plosone.org>
56. Sturm RK, Hulse PD, Govotkova EA, Humberd J, Seiler P, Puthavathana P, *et al*. Are ducks contributing to the endemicity of highly pathogenic H5N1 influenza virus in Asia? *Journal of Virology*. 2005; (79):11269-11279.
57. Sandrock C, Kelly T. Clinical Review: update of avian influenza A infections in humans. *Critical Care* 2007; (11)1-9. Disponible en: <http://ccforum.com/content/11/2/209>
58. Xiao X, Gilbert M, Slingenberh J, Lei F, Boles S. Remote sensing, ecological variables, and wild bird migration related to outbreaks of highly pathogenic H5N1 avian influenza. *Journal of Wildlife Disease*. 2007; 43 (Suppl 1):40-46.
59. Pantin JM, Swayne DE. Pathobiology of Asian highly pathogenic avian influenza H5N1 virus infections in ducks. *Avian Diseases*. 2007; (50):250-259.
60. Duan L, Campitelli L, Fan XH, Leung YHC, Vijaykrishna D, Zhang JX, *et al*. Chracterization of low-pathogenic H5 subtype influenza viruses from Eurasia:

- implications for the origin of highly pathogenic viruses. *Journal of Virology*. 2007; (81):7529-7539.
61. Teifke JP, Klopfleisch R, Globig A, Starick E, Hoffmann B, Wolf PU, *et al.* Pathology of natural infections by H5N1 highly pathogenic avian influenza virus in mute (*Cygnus olor*) and Whooper (*Cygnus Cygnus*) swans. *Vet Pathol*. 2007; (44):137-143.
 62. Yen HL, Aldrige JR, Boon AC, Ilyushina NA, Salomon R, Hulse-Post DJ, *et al.* Changes in H5N1 influenza virus hemagglutinin receptor binding domain affect systemic spread. *PNAS*. 2009; (106):286-291.
 63. Keawcharoen J, Oraveerakul K, Kuiken T, Fouchier RA, Amonsin A, Payungporn S, *et al.* Avian influenza H5N1 in tigers and leopards. *Emerging Infectious Diseases*. 2004; (10):2189-2191.
 64. FAO. Influenza aviar H5N1 en gatos. 2006. Artículo disponible en: <http://www.rle.fao.org/es/prioridades/transfron/aviar/animales.htm>
 65. Rimmelzwaan GF, Riel D, Baars M, Bestebroer TM, Amerongen G, Fouchier RA, *et al.* Influenza A virus (H5N1) infection in cats causes systemic disease with potential novel routes of virus spread within and between host. *American Journal of Pathology*. 2006; (168):176-183.
 66. OIE. 2009. Influenza Aviar de Alta Patogenicidad *Peste de las Aves de Corral, Gripe aviar*. Artículo disponible en: http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/influenza_aviar_de_alta_patogenicidad.pdf
 67. Alexander DJ. A review of avian influenza in different birds species. *Veterinary Microbiology*. 2006;(74):3-13.
 68. Olsen B, Munster VJ, Wallensten A, Waldenström J, Osterhaus AD, Fouchier RA. Global patterns of influenza A virus in wild birds. *Science*. 2006;(312):384-388.
 69. Paek MR, Lee YJ, Yoo H, Kang HM, Kim MC, Choi JG, *et al.* Survival rate of H5N1 high pathogenic avian influenza viruses at different temperatures. *Poultry Science*. 2010; (89):1647-1650.
 70. Horimoto T, Kawaoka Y. Pandemic threat posed by avian influenza A viruses. *Clinical Microbiology Reviews*. 2001;(14):129-149.
 71. Gilbert M, Xiao X, Domenech J, Lubroth J, Martin V, Slingenbergh. Anatidae migration in the western palearctic and spread of highly pathogenic avian influenza H5N1 virus. *Emerging Infectious Diseases*. 2006; (12):1650-1656.

72. Stallknecht DE, Brown JD. Wild birds and the epidemiology of avian influenza. *Journal of Wildlife Diseases*. 2007; (43):15-20
73. Flint PL. Applying the scientific method when assessing the influence of migratory birds on the dispersal of H5N1. *Virology Journal*. 2007; (4):132.
74. Takekawa JY, Newman SH, Xiao X, Prosser DJ, Spragens KA, Palm EC, *et al.* Migration of waterfowl in East Asian flyway and spatial relationship to HPAI H5N1 outbreaks. *Avian Diseases*. 2010; (54 suppl):466-476.
75. Munoz R. La influenza aviar ¿Una amenaza global? Tema: Programas activos y pasivos de monitoreo/ vigilancia de influenza aviar. *Memorias del Precongreso Científico Avícola IASA*. 2006.
76. Weber TP, Stilianakis NI. Ecologic immunology of avian influenza (H5N1) in migratory birds. *Emerging Infectious Diseases*. 2007; (13):1139-1143.
77. Wang G, Zhan D, Li L, Lei F, Liu B, Liu D, *et al.* H5N1 avian influenza re-emergence of Lake Qinghai: phylogenetic and antigenic analyses of the newly isolated viruses and roles of migratory birds in virus circulation. *Journal of General Virology*. 2008; (89):697-702.
78. Brown JD, Stallknecht DE, Valeika S, Swayne DE. Susceptibility of wood ducks to H5N1 Highly pathogenic avian influenza virus. *Journal of Wildlife Diseases*. 2007; (43):660-667.
79. Rinder M, Lang V, Fuchs C, Marx AH, Bogner KH, Neubauer A, *et al.* Genetic evidence for multi-event imports of avian influenza virus A (H5N1) into Bavaria, Germany. *J Vet Diagn Invest*. 2007; (19):279-282.
80. Fare CJ. Role of wild birds in the spread of high pathogenic avian influenza virus H5N1 and implication for global surveillance. *Avian Diseases*. 2010; (54 suppl):201-212.
81. Bourouiba L, Wu J, Newman S, Takekawa J, Natdorj T, Batbayar N, *et al.* Spatial dynamics of bar headed geese migration in the context of H5N1. *Journal of the Royal Society Interface*. 2010; (14):1098-1102.
82. Lee YJ, Choi YK, Kim YJ, Song MS, Jeong OM, Lee EK, *et al.* Highly pathogenic avian influenza virus H5N1 in domestic poultry and relationship with migratory birds, South Korea. *Emerging Infectious Diseases*. 2008;(14):487-490

83. Gauthier C, C. Lebarbenchon, F. Thomas. Recent expansion of highly pathogenic avian influenza H5N1: a critical review. British Ornithologist Union. Journal Compilation. 2007; (149):2002-214.
84. Williams RA, Peterson T. Ecology and geography of avian influenza (HPAI H5N1) transmission in the Middle East and Northeastern Africa. International Journal of Health Geographics. 2009; (8). Artículo disponible en: <http://www.ij-healthgeographics.com/content/8/1/47>
85. Tiensin T, Nielen M, Songsern T, Kalpravidh, Chaitaweesub P, Amonsin A, *et al.* Geographic and temporal distribution of highly pathogenic avian influenza virus (H5N1) in Thailand, 2004-2005: An Overview. Avian Diseases. 2007; (50):182-188.
86. Beldomenico PM, Uhart M, Ferreyra H, Romano M, Marteleur G. Relevancia de las arroceras en la ecología de la influenza aviar. 2008. Primer taller para la conservación de las aves playeras migratorias en arroceras del cono sur. Wetlands International. Buenos Aires. Argentina. Artículo disponible en: <http://www.lac.wetlands.org>
87. Alexander DJ. Summary of avian influenza activity in Europe, Asia, Africa, and Australasia, 2002-2006. Avian Diseases. 2007; (50):161-166.
88. Komar N, Olsen B. Avian influenza virus (H5N1) mortality surveillance. Emerging Infectious Diseases. 2008; (14):1176-1178.
89. Ducatez MF, Olinger CM, Owoade AA, Tarnagda Z, Tahita MC, Sow A, *et al.* Molecular and antigenic evolution and geographical spread of H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses in western Africa. Journal of General Virology. 2007; (88):2297-2306.
90. Marangon S, Busani L, Capua I. Practicalities of the implementation of a vaccination campaign for avian influenza. Avian Diseases. 2007; (50):297-303.
91. Goetz SK, Spackman E, Hayhow C, Swayne DE. Assessment of reduced vaccine dose on efficacy of an inactivated avian influenza vaccine against an H5N1 high pathogenicity avian influenza virus. J. Appl. Poult. Res. 2008; (17):145-150.
92. Grupo ad hoc de la OIE. 2006. Vacunación contra la influenza aviar. Recomendaciones de Verona. Artículo disponible en: http://www.oie.int/esp/info_ev/Other%20Files/E_Guidelines%20on%20AI%20vaccination.pdf

93. Veits J, Römer OA, Helferich D, Durban M, Suezer Y, Sutter G, *et al.* Protective efficacy of several vaccines against highly pathogenic H5N1 avian influenza virus under experimental conditions. *Vaccine*. 2008; (26):1688-1696.
94. Escorcía M, Vázquez L, Méndez ST, Rodríguez RA, Lucio E, Nava GM. Avian Influenza: genetic evolution under vaccination pressure. *Virology Journal*. 2008. Artículo disponible en: <http://www.virologyj.com/content/5/1/15>
95. Jeong KK, Seiler P, Forrest HL, Khalenkov AM, Franks J, Kumar M, *et al.* Pathogenicity and vaccine efficacy of different clades of Asian H5N1 avian influenza viruses in domestic ducks. *Journal of Virology*. 2008; (82):11374-11382.
96. Manual de Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres. 2005. Capítulo 2.1.14. Artículo disponible en: http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/e_summary.htm
97. Pfeiffer J, Suarez DL, Sarmiento L, To TL, Nguyen T, Pantin JM. Efficacy of commercial vaccines in protecting chickens and ducks against H5N1 high pathogenic avian influenza viruses from Vietnam. *Avian Diseases*. 2010; (54 suppl); 262-271.
98. Swayne DE, Lee CW, Spackman E. Inactivated North American and European H5N2 avian influenza virus vaccines protect chickens from Asian H5N1 high pathogenicity avian influenza virus. *Avian Pathology*. 2006; (35):141-146.
99. Webster R, Hulse D. Controlling avian flu at the source. *Nature*. 2005; (435):415-416.
100. Soto E, Gay M, Escamilla J, Castro F, Antillón A, Camacho E, *et al.* Innovac[®] rND-H5[®]. Vacuna recombinante del virus de la enfermedad de Newcastle conteniendo el gen HA del subtipo H5 del virus del influenza aviar. Artículo disponible en: <http://www.avimex.com.mx>
101. Thiermann AB. The new world organization for animal health standards on avian influenza and international trade. *Avian Diseases*. 2007. (50):338-339.
102. Williams RA, Peterson T. Risks mapping of highly pathogenic avian influenza distribution and spread. 2008; (13). Artículo disponible en: <http://www.ecologyandsociety.org/vol13/iss2/art15/>
103. Yamamoto Y, Nakamura K, Okamatsu M, Yamada M, Mase Masaji. Avian influenza virus (H5N1) replication in feathers of domestic waterfowl. *Emerging Infectious Diseases*. 2008;(14):149-151.

104. Yamamoto Y, Nakamura K, Yamada M, Mase M. Persistence of avian influenza virus (H5N1) in feather detached from bodies of infected domestic duck. *Applied Environmental Microbiology*. 2010; (76):5496-5499.
105. Memoria del Panel de la Universidad de Guadalajara. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA). Departamento de Medicina Veterinaria. Influenza Aviar variante H5N1. 2005. Artículo disponible en: <http://www.cucba.udg.mx/vidauniversitaria/influenza/panel.htm>
106. Normile D. Evidence points to migratory birds in H5N1 spread. *Science*. 2006; (311):1225.
107. Chen H, Smith GJ, Li KS, Wang J, Fan XH, Rayner JM, *et al*. Establishment of multiple sublineages of H5N1 influenza virus in Asia: implications for pandemic control. *PNAS*. 2006;(103):2845-2850. Artículo disponible en: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.051120103>
108. FAO/OIE. 2006. Martin V, Forman A, Lubroth J. 2006. Preparándose para la influenza aviar altamente patógena. Un manual para países en riesgo. Artículo disponible en: <http://www.rlc.fao.org/es/prioridades/transfron/aviar/pdf/manualiap2.pdf>
109. Brown JD, Stallknecht DE, Swayne DE. Experimental infection of swans and geese with highly pathogenic avian influenza virus (H5N1) of Asian Lineage. *Emerging Infectious Diseases*. 2008; (14):136-142.
110. Gils JA, Munster VJ, Radersma R, Liefhebber D, Fouchier RA, Klaassen M. Hampered Foraging and migratory performance in swans infected with the pathogenic avian influenza A virus. *Plos ONE*. 2007; (1):1-6. Artículo disponible en: <http://www.plosone.org>
111. Kuiken T, Holmes EC, McCauley J, Rimmelzwaan GF, Williams CS, Grenfell BT. Host species barriers to influenza virus infection. *Science* 2006; (312): 394-397.
112. Barrera LM. Características del virus de la influenza aviar y una nueva vacuna Flu-Vlps. 2006. Artículo disponible en: <http://patologiaaviaruptc.blogspot.com/2006/11/caractersticas-del-virus-de-la.html>)
113. Swayne DE. Understanding the complex pathobiology of high pathogenicity avian influenza viruses in birds. *Avian Diseases*. 2007; (50):242-249.

114. Harder TC, Teuffert J, Starick E, Gethmann J, Grund C, Fereidouni S, *et al.* Highly pathogenic avian influenza virus (H5N1) in frozen duck carcasses, Germany, 2007. *Emerging Infectious Diseases*. 2009; (15):272-279.
115. Bröjer C, Agren EO, Uhlhorn H, Bernodt K, Mörner T, Jansson DS, *et al.* Pathology of natural highly pathogenic avian influenza H5N1 infection in wild tufted ducks (*Aythya fuligula*). *Journal of Veterinary Diagnostic and Investigation*. 2009; (21):579-587.
116. Kwon YK, Joh SJ, Kim MC, Song HW, Lee YJ, Choi JG. *Et al.* Highly pathogenic avian influenza (H5N1) in the commercial domestic ducks of South Korea. *Avian Pathology*. 2005;(34):367-370.
117. Suzuki K, Okada H, Itoh T, Tada T, Mase M, Nakamura K, *et al.* Association of increased pathogenicity of Asian H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses in chickens with highly efficient viral replication accompanied by early destruction of innate immune responses. *Journal of Virology*. 2009; (83):7475-7486.
118. Chen H, Smith GJD, Zhang SY, Qin K, Wang J, Li KS, *et al.* H5N1 virus outbreak in migratory waterfowl. *Nature*. 2005; (436):191.
119. Pearson JE. International standards for the control of avian influenza. *Avian Diseases*. 2003; (47):972-975.
120. Weinberg A, Mettenbrick CJ, Ye D, Yang CF. Sensitivity of diagnostic tests for influenza varies with the circulating strains. *Journal of Clinical Virology* 2005; (33):172-175.
121. Musa OI, Salaudeen AG, Akanbi II, Bolarinwa OA. Risk factors threats and prevention of highly pathogenic avian influenza (HPAI) in African countries. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*. 2009; (10):99-116.
122. Sims LD, Ellis TM, Liu KK, Dyrting K, Wong H, Peiris M, *et al.* Avian influenza in Hong Kong 1997-2002. *Avian Diseases*. 2003; (47):832-838.
123. Ho Ht, Quian HL, He F, Meng T, Szyporta M, Prabhu N, *et al.* Rapid detection of H5N1 subtype influenza viruses by antigen capture Enzime-Linked Immunosorbent Assay using H5 and N1 specific monoclonal antibodies. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2009; (16):726-732.
124. Guiding principles for highly pathogenic avian influenza surveillance and diagnostic networks in asia. Artículo disponible en: <http://www.fao.org/docs/eims/upload/164167/Guidingprinciples.pdf>

125. Wei HL, Bai GR, Mweene AS, Zhou YC, Cong YL, Pu J, *et al.* Rapid detection of avian influenza virus A and subtype H5N1 by single step multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction. *Virus Genes* 2006; (32):261-267.
126. Ling WH, Rong BG, Mweene SA, Chun ZY, Long CY, Pu J. *et al.* Rapid detection of avian influenza virus A and subtype H5N1 by single step multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction. *Virus Genes*. 2006;(32):261-267.
127. Das A, Spackman E, Thomas C, Swayne D, Suarez DL. Detection of H5N1 High pathogenicity avian influenza virus in meat and tracheal samples from experimentally infected chickens. *Avian Diseases*.2008;(52):40-48
128. SAGAR-INIFAP. 1997. Memoria de la influenza aviar en México.
129. Chen W, He B, Li C, Zhang X, Wu W, Yin X, *et al.* Real- time RT- PCR for H5N1 avian influenza A virus detection. *Journal of Medical Microbiology*. 2007; (56):603-607.
130. OIE. Código sanitario para los animales terrestres. Capítulo 4.3. Zonificación y compartimentación. 2009. Artículo disponible en: http://www.oie.int/esp/normes/mcode/es_chapitre_1.4.3.htm).
131. Domenech J, Honhold N, McLeod A, Sarkar S, Harris P. Biosecurity for highly pathogenic avian influenza: Issues and options. FAO-OIE. 2008; Artículo disponible en: <http://www.thepoultrysite.com/articles/1242/biosecurity-for-highly-pathogenic-avian-influenza-issues-and-options>
132. Songserm T, Jam-on R, Sae-Heng N, Meemak N, Hulse-Post D, Sturm-Ramirez, *et al.* Domestic ducks and H5N1 influenza epidemic, Thailand. *Emerging Infectious Diseases*. 2006;(12):575-581
133. Buranathai C, Amonsin A, Chaisigh A, Theamboonlers A, Paryothorn N, Poovorawan Y. Surveillance activities and molecular analysis of H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses from Thailand, 2004-2005. *Avian Diseases*. 2007; (50):194-200.
134. Lista de datos básicos para la aplicación práctica de compartimentación en el caso de Influenza Aviar y Enfermedad de Newcastle. Artículo disponible en: http://www.oie.int/esp/info_ev/Other%20Files/ESP_final%20compartimentalisationS ED%207-05-07.pdf
135. OIE. Contingency manual for avian influenza. Artículo disponible en: http://www.oie.int/eng/avian_influenza/Contingency%20Manual.pdf).

136. Guberti V, Newman SH. Guidelines on wild bird surveillance for highly pathogenic avian influenza H5N1 virus. *Journal of Wild Life Diseases* 2007; (suppl 43):29-34.
137. The International Bank for Reconstruction and Development 2006. Enhancing control of highly pathogenic avian influenza in developing countries through compensation: issues and good practice. Artículo disponible en: http://siteresources.worldbank.org/INTARD/2145741171993938203/21226622/HPAI_ExecutiveSummary.pdf
138. FAO. 2005. Respuesta de la FAO ante la crisis de la peste aviar. Artículo disponible en: http://www.fao.org/avianflu/documents/Albrief_Sept2005es.pdf
139. Hinrichs J, Sims L, McLeod A. Some direct costs of control for avian influenza. Artículo disponible en: http://www.fao.org/docs/eims/upload/213699/agal_AI_210906.pdf
140. Monke J, Corn ML. Avian influenza in poultry and wild birds. CRS Report for Congress. 2007. Artículo disponible en: <http://www.ncseonline.org/nle/crsreports/07Feb/RL33795.pdf>
141. FAO/OIE. The global strategy for prevention and control of H5N1 highly pathogenic avian influenza. 2007. Artículo disponible en: http://www.fao.org/docs/eims/upload/210745/glob_strat_hpai_apr07_en.pdf

ANEXO 1. MÉTODOS PARA LIMPIAR Y DESINFECTAR

Una vez que se ha concluido la despoblación de las aves infectadas, es necesario realizar una limpieza minuciosa de las instalaciones y equipamiento, así como la desinfección con un producto aprobado oficialmente y utilizado a la concentración y tiempo de exposición establecidos. Este proceso se lleva a cabo en dos fases:

- 1) Limpieza que consiste en la eliminación física de materia orgánica principalmente las heces, polvo o cualquier cuerpo extraño de los objetos. Se realiza con agua y detergente.
- 2) Desinfección.

ÁREA O MATERIALES A LIMPIAR Y DESINFECTAR	DESINFECTANTE	VENTAJAS	DESVENTAJAS
<ul style="list-style-type: none"> • Gallineros • Vivienda humana • Equipo • Vehículos • Ropa 	Agentes oxidantes: <ul style="list-style-type: none"> ✓ Hipoclorito de sodio: líquido, diluir a solución final al 2-3% cloro. 10-30 minutos de tiempo de contacto. ✓ Hipoclorito de calcio: Sólido o en polvo, diluir 2-3% cloro disponible (20 g/litro en polvo, 30 g/litro sólido). 10-30 minutos de tiempo de contacto. ✓ Virkon®: 2% (20 g/litro). 10 minutos de tiempo de contacto. 	- Fácil de conseguir y económico.	- No apropiado para materiales orgánicos. - No es económico.
	Alcalis: <ul style="list-style-type: none"> ✓ Hidróxido de sodio (sosa caústica) (NaOH): 2% (20 g/litro). 10 minutos de tiempo de contacto. ✓ Carbonato de sodio anhidro (Na₂CO₃ · 10H₂O): 4% (40 g/litro, en polvo 100g/litro en. 10-30 minutos de tiempo de contacto. 	- No usar en presencia de materia orgánica.	- No usar en conjunto con aluminio o aleaciones parecidas.
Heces	Ácidos <ul style="list-style-type: none"> ✓ Ácido clorhídrico (HCL): 2% (20 litro). ✓ Ácido cítrico: 0.2% (2g/litro), seguro. Tiempo de contacto 30 minutos. 	- No utilizar en ropa o cuerpo. - Efectivo y seguro para desinfectar ropa y cuerpo.	- Corrosivo
Equipo eléctrico	Gas formaldehído: tóxico. Tiempo de exposición de 15-24 horas.		- No se encuentran en presentación comercial. - Tóxico

Fuente: OIE. Contingency manual for avian influenza. Artículo disponible en: http://www.oie.int/eng/avian_influenza/Contingency%20Manual.pdf; OIE-FAO. 2008. Preparándose para la influenza aviar altamente patógena. Un manual para países en riesgo; Ministerio de la Agricultura. Instituto de Medicina Veterinaria. Programa de Prevención y control de influenza aviar altamente patógena. 2006. Artículo disponible en: <http://www.mvd.sld.cu/ftp/PROGRAMA%20PREVENCION%20IA%204.pdf>; Código Sanitario para los animales terrestres. OIE. Capítulo 7.6. Matanza de animales con fines profiláticos. 2008. Artículo disponible en: http://www.oie.int/esp/nomes/mcode/es_chapitre_1_7_6.htm

ANEXO 2. CASOS DE INFLUENZA AVIAR SUBTIPO A (H5N1) EN HUMANOS

PAÍS	2003		2004		2005		2006		2007		2008		2009		2010		TOTAL	
	CA SO S	MU ERT ES																
AZER BAIJA N	0	0	0	0	0	0	8	5	0	0	0	0	0	0	0	0	8	5
BANG LADE SH	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
CAMB OYA	0	0	0	0	4	4	2	2	1	1	1	0	1	0	1	1	10	8
CHIN A	1	1	0	0	8	5	13	8	5	3	4	4	7	4	1	1	39	26
DJBO UTI	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
EGIPT O	0	0	0	0	0	0	18	10	25	9	8	4	39	4	21	8	11 1	35
INDO NESIA	0	0	0	0	20	13	55	45	42	37	24	20	21	19	6	5	16 8	139
IRAK	0	0	0	0	0	0	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2
LAOS REPÚ BLICA DEMO CRÁTICA	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2
MYAN MAR	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
NIGE RIA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1
PAKIS TÁN	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0	0	0	0	0	3	1
TAILA NDIA	0	0	17	12	5	2	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	25	17
TURQ UÍA	0	0	0	0	0	0	12	4	0	0	0	0	0	0	0	0	12	4
VIETN AM	3	3	29	20	61	19	0	0	8	5	6	5	5	5	7	2	11 9	59
TOTA L	4	4	46	32	98	43	11 5	79	88	59	44	33	73	32	36	17	5 0 4	29 9 4

Fuente: La OMS (Organización Mundial de la Salud) reporta sólo casos confirmados diagnóstico de laboratorio. Agosto 2010.
http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/country/cases_table_2010_08_31/en/index.html

ANEXO 3. VACUNACIÓN

La FAO y la OIE han hecho recomendaciones para el uso de vacunas aprobadas, la mayoría de estas vacunas se encuentran disponibles comercialmente y su uso puede ser consultado en el Manual para Pruebas de Diagnóstico y Vacunas para los Animales Terrestres de la OIE. Dependiendo de la incidencia y distribución de los brotes, la vacunación podrá ser realizada alrededor de los brotes (vacunación en anillo) o en toda la población de aves de corral (vacunación masiva).

VACUNA	INMUNIZACIÓN	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Vacuna homóloga inactivada. Contiene los antígenos H y N de la cepa aislada en brote.	✓ Administrar dos dosis de vacuna en intervalos de 30 días.	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Fácil disponibilidad ✓ Rápido inmunidad ✓ No es costosa ✓ Segura 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ No se puede diferenciar las aves vacunadas de las infectadas por serología. ✓ Se requiere dosis adicionales en especies longevas (patos y gansos) para inmunidad efectiva. ✓ Requiere inyección percutánea
Vacuna heteróloga inactivada. Estrategia (DIVA Diferenciación de Animales Convalecientes de Aquellos Vacunados por sus siglas en inglés) Contiene el mismo subtipo HA y diferente subtipo NA comparado con el virus aislado en el brote.	✓ Administrar dos dosis de vacuna en intervalos de 30 días	<ul style="list-style-type: none"> ✓ NA: marcador de infección de campo ✓ La serología diferenciar virus de campo y virus de vacuna. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Infraestructura de los laboratorios para realizar pruebas discriminativas basadas en el antígeno N ✓ La serología es costosa, requiere reactivos adicionales ✓ Requiere potenciadores en especies longevas ✓ Requiere inyección percutánea
Vacuna recombinante (Virus Fowlpox)	✓ Pollos de un día, debido a que la inoculación se realiza mediante punción en el ala, lo que puede hacerse rápidamente y con mínima capacitación.	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Permite la diferenciación entre virus de campo y vacunal por medio de serología. ✓ Especificidad de la respuesta inmune dirigida contra componentes HA. ✓ La vacunación es rápida y solo requiere una dosis. ✓ No es costosa 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Solo vacunar pollos sin previa exposición al pox aviar. ✓ No puede ser utilizada en gansos/patos ✓ Requiere inyección percutánea ✓ Esta vacuna no puede ser utilizada en aves adultas ya que estas han estado probablemente expuestas al pox aviar.

Fuente: OIE-FAO. 2008. Preparándose para la influenza aviar altamente patógena. Un manual para países en riesgo; Influenza aviar: OIE. Manual de pruebas de diagnóstico y vacunas para los animales terrestres.2008. Capítulo 2.7.12.

ANEXO 4. MÉTODOS DE SACRIFICIO Y ELIMINACIÓN DE LOS CADÁVERES Y MATERIALES INFECTADOS.

Las aves deben ser sacrificadas mediante métodos físicos o químicos que consideren el bienestar animal y preferentemente el proceso debe realizarse dentro del área donde se produjo el brote. El personal encargado de estas acciones debe considerar:

- ✓ Medios de protección adecuados evitando accidentes o riesgo de infección.
- ✓ Personal capacitado concerniente al manejo de aves.
- ✓ Condiciones adecuadas y eficaces para acorrallar las aves, de forma que se evite su dispersión por el área y reducir la exposición de aerosoles, desprendimiento de plumas, escurrimiento de sangre y otros fluidos corporales.

MÉTODO	POBLACIÓN DE AVES	REQUISITOS Y MATERIAL	FUNDAMENTO	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Trituración mecánica	Pollitos de 1 día de edad y huevos embrionados.	Aparato mecánico con cuchillas trituradoras.	Provoca muerte inmediata.	- Provoca muerte inmediata. - Sacrificio masivo.	- Aparato especial. - Los tejidos triturados representan riesgos de infección.
Aturdimiento y muerte	Población masiva de aves.	Dispositivo aturridor móvil con tanque de agua y un circuito corto de línea de procesamiento.	Aturdimiento por inmersión en posición invertida y sujeta por un gancho en un tanque de agua electrificado. Frecuencia de 50 a 60Hz durante 3 segundos.	- Aturdimiento y muerte simultáneos. - Sacrificio fiable y eficaz. - Técnica no invasiva sin riesgos a la salud pública.	- Requiere fuente de electricidad fiable. - Se necesita manipular, voltear y sujetar a las aves.
Dislocación Cervical o estiramiento del cuello.	Aves con peso menor a 3Kg. Población de 1 a 1000 aves.	Pinzas. Burdizo.	Muerte por asfixia y anoxia cerebral. Estiramiento del cuello de forma mecánica o pinzas para aplastar vértebras cervicales.	- Método de matanza no invasivo. - Matanza manual de aves pequeñas.	- Cansancio del operador. - Método difícil de aplicar con aves de mayor peso. - Requiere de personal capacitado. - Problemas de salud pública por sujeción del ave.
Decapitación	Pocas aves.	Guillotina o cuchillo.	Muerte por isquemia cerebral.	- Técnica eficaz que no requiere ser controlada.	- Exposición a los fluidos corporales.
MÉTODOS QUÍMICOS					
Asfixia por Bióxido de Carbono (CO2) en contenedor.	1000 a 15.000 aves.	Botes de basura grandes plásticos ó depósitos similares.	Muerte por acidosis respiratoria y metabólica.	- El CO2 es fácil de adquirir. - Método de fácil proceso.	- Contenedor debidamente diseñado. - Las altas concentraciones de CO2 provocan repulsión. - No hay pérdida de conocimiento inmediata. - Es difícil comprobar la muerte.
Asfixia por CO2 en	Para aves criadas en	Vaporizador para evitar que	Asfixia	- Aplicación de gas <i>in situ</i> elimina la necesidad de sacar	- Es difícil medir con precisión la cantidad de gas

gallinero.	naves cerradas.	el CO2 se congele. Dispositivos que miden la concentración de gas.		a las aves del gallinero.	necesaria para alcanzar la concentración necesaria. - Es difícil comprobar la muerte.
Mezcla de nitrógeno o gases inertes con CO2	Poblaciones de aves menores a 1000.	Mezcla de nitrógeno y argón ≤ 30% de CO2 y ≤ 20% de O ₂ . Contenedores.	Hipoxia, hipercapnia y la muerte.	- El CO2 a baja concentración no provoca repulsión.	- Se necesita de contenedor apropiado. - Difícil de comprobar la muerte. - La pérdida de conocimiento no es inmediata. - Tiempo requerido considerable.
Adición de anestésicos al alimento o agua con fenobarbital agua de bebida (80mg/55ml)	Población masiva más de 1000 aves.	Anestésicos.	Ingestión de anestésico en agua o alimento.	- No se necesita manipular a las aves hasta que estén anestesiadas. - Para un número elevado de aves infectadas.	- Otros animales pueden intoxicarse si se practica al aire libre. - Los resultados varían. - Las aves pueden rechazar el agua o alimento. - El método puede requerir de otro método para el sacrificio (decapitación o dislocación cervical). - Precaución extrema al preparar, suministrar los alimentos, así como eliminar de forma apropiada los cadáveres.

ELIMINACIÓN DE LOS CADÁVERES Y OTROS MATERIALES INFECTADOS.

Elegir el lugar o lugares adecuados para la disposición final de cadáveres y el método apropiado, considerando las herramientas necesarias para lograr el objetivo de manera eficaz.

Las acciones se deben ejecutar con el cumplimiento de las medidas de protección del Medio Ambiente y la aprobación de Organismos Reguladores Competentes.

MÉTODO	LUGAR	HERRAMIENTAS	PROCEDIMIENTO	VENTAJAS	DESVENTAJAS
ENTERRAMIENTO	Sitio de infección. Si existen varios focos es recomendable elegir un lugar en común.	Excavadora. Niveladoras o palas si no hay excavadoras.	Cavar hasta donde llegue la maquinaria y con paredes verticales. Cubrir los cadáveres 40cm de tierra. Agregar cal para prevenir que los gusanos a causa de la descomposición	- Minimiza la distancia de transporte de material infectado.	- Equipo necesario no disponible. - Efectos adversos al medio ambiente.

			transporten el material infectado al exterior.		
ELABORACIÓN DE COMPOSTA	Gallineros o <i>in situ</i> en un área segura para otras aves no infectadas	Acumulación de cadáveres con otros materiales infectados como: madera, camas de paja.	1m de suelo entre el montículo y cualquier fuente de agua. La temperatura adecuada es de 55 a 60°C. Durante 10 días. El material adecuadamente descompuesto debe ser oscuro y sin olor penetrante a putrefacción.	- Efectiva para abono y desperdicios. - Método eficaz cuando no es posible el enterramiento .	- Si no existe un lugar adecuado puede resultar ineficaz. - Los perros y otros animales pueden excavar y exhibir los desechos.
QUEMA	Fuera del lugar infectado cuando varios focos deben ser despoblados de un área determinada.	Combustible suficiente (diesel o aceite para quemar).	Colocar todos los cadáveres sobre material de combustión, una vez depositados los cadáveres se agrega diesel o aceite para quemar, los puntos de encendido quedan a 10metros a lo largo de la cama de fuego. Posteriormente enterrar las cenizas.	- Un fuego bien preparado incinerará los cadáveres en 48 horas.	
INCINERACIÓN	Sistema cerrado para el tratamiento mecánico y térmico de desperdicios y cadáveres	Planta incineradora.	Propio para desperdicios.		- No propia para incinerar cadáveres, debido a que es necesario que la planta incineradora posea suficiente capacidad y se pueda desinfectar eficazmente.

Nota: Cuando el entierro o incineración no puedan realizarse en el lugar infectado, se debe considerar el transporte de los cadáveres y material infeccioso a un lugar autorizado para su eliminación. Los requisitos mínimos que debe reunir el transporte son:

- ✓ contenedor grande que no presente perforaciones y no sobrecargar
- ✓ los vehículos deben respetar una velocidad mínima para evitar derrames, en caso de que hubiera derrames el vehículo debe contar con desinfectantes aprobados.
- ✓ el vehículo debe someterse a un estricto plan de limpieza y desinfección antes de salir del lugar y después de haber descargado.

Fuente: OIE. Contingency manual for avian influenza. Artículo disponible en: http://www.oie.int/eng/avian_influenza/Contingency%20Manual.pdf; OIE-FAO. 2008. Preparándose para la influenza aviar altamente patógena. Un manual para países en riesgo; Ministerio de la Agricultura. Instituto de Medicina Veterinaria. Código Sanitario para los animales terrestres. OIE. Capítulo 7.6. Matanza de animales con fines profiláticos.2008. Artículo disponible en: http://www.oie.int/esp/normes/mcode/es_chapitre_1.7.6.htm

