



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina Veterinaria

Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

**Prevalencia de anticuerpos contra el virus de la
influenza tipo A en aves reproductoras del
departamento de Lima**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

José Alonso CALLUPE LEYVA

ASESOR

Mg. Rosa Isabel GONZÁLEZ VÉLIZ

Lima, Perú

2022



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Callupe J. Prevalencia de anticuerpos contra el virus de la influenza tipo A en aves reproductoras del departamento de Lima [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2022.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	José Alonso Callupe Leyva
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	74166937
URL de ORCID	-----
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Rosa Isabel González Véliz
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	10300467
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-3091-0980
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Armando Emiliano Gonzalez Zariquiey
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07330504
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Gina Ruth Castro Sanguinetti
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	42121918
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Mercy Gisela Ramírez Velásquez
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10713781
Datos de investigación	

Línea de investigación	B.4.1.6. Patología Aviar
Grupo de investigación	Grupo de Investigación en Aves-San Marcos (GINAVES)
Agencia de financiamiento	Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos y al FONDECYT – CONCYTEC a través del Contrato N ^o 02-2019-FONDECYTBM-INC-INV
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: San Borja Dirección: Av. Circunvalación 2800. Latitud: -12.08348 Longitud: -76.984573
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2020-2021
URL de disciplinas OCDE	Ciencia Veterinaria https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.01



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS EN MODALIDAD VIRTUAL
PARA OPTAR EL TÍTULO DE MEDICO VETERINARIO
Autorizado por R.D N° 304-D-FMV-2020**

1. FECHA DE LA SUSTENTACIÓN 26/08/2022

HORA INICIO: 12:00 horas

HORA TÉRMINO: 13:10 horas

2. MIEMBROS DEL JURADO

PRESIDENTE: **MV. PhD. Gonzalez Zariquiey, Armando Emiliano**

MIEMBRO: **MV. Mg. Castro Sanguinetti, Gina**

MIEMBRO: **MV. Mg. Ramírez Velásquez, Mercy Gisela**

ASESORA: **Blga. Mg. González Véliz, Rosa Isabel**

3. DATOS DEL TESISISTA

APELLIDOS Y NOMBRES: **CALLUPE LEYVA, JOSÉ ALONSO**

CÓDIGO: *10080052*

R.R. DE GRADO DE TESISISTA NÚMERO: **N° 008382-2022-R-UNMSM**

TÍTULO: **“PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS DE LA INFLUENZA TIPO A EN AVES REPRODUCTORAS DEL DEPARTAMENTO DE LIMA”**

4. RECOMENDACIONES

Datos de la plataforma virtual institucional del acto de sustentación:

<https://meet.google.com/ree-zfnz-fhx>

ID: ree-zfnz-fhx

Grabación archivada en:

<https://drive.google.com/file/d/1eduJkbYg7c3Lv3d17uAxMRXtDDVCVTx2/view?usp=sharing>

5. NOTA OBTENIDA: 17 Diecisiete

6. PÚBLICO ASISTENTE: (Nombre, apellido y DNI)

TESISTA	1	José Alonso Callupe Leyva	-	josealonso.callupe@unmsm.edu.pe
JURADO	2	Armando González Zariquiey	-	agonzalezz@unmsm.edu.pe
	3	Rosa González Véliz	-	rgonzalezv@unmsm.edu.pe
	4	Gina Castro Sanguinetti	-	gcastros@unmsm.edu.pe
	5	Mercy Ramírez Velásquez	-	mramirezv@unmsm.edu.pe
MODERADOR	6	Luis Cerro Temoche	41341572	lcerrot@unmsm.edu.pe
COMITÉ DE SUSTENTACIONES	7	Víctor Hugo Castillo Doloriert	08703624	vcastillod@unmsm.edu.pe
	8	Luis Hoyos Sifuentes	41175479	luis.hoyos@unmsm.edu.pe
	9	Miryam Quevedo Urday	40064320	mquevedou@unmsm.edu.pe
	10	Faride Altamirano Zevallos	43695598	faltamiranoz@unmsm.edu.pe
INVITADOS POR EL TESISTA	-	-	-	-
	-	-	-	-
SOLICITUD DE ASISTENCIA DOCENTES	11	Antonio Ampuero Bustillo	-	aampuerob@unmsm.edu.pe
	12	Francisco Suárez Aranda	-	fsuareza@unmsm.edu.pe
	13	Juan Olazabal Loaiza	-	jolazaball@unmsm.edu.pe
SOLICITUD DE ASISTENCIA ESTUDIANTES	14	Camila Valeria Cortez Rodriguez	73542105	camila.cortez@unmsm.edu.pe
	15	Sharon Nicole Cabanillas Ruidiaz	77676886	sharon.cabanillas@unmsm.edu.pe
	16	Noriko Oviedo Centeno	76970467	junni501@gmail.com
	17	Claudia Valeria Nuñez La Torre	71220558	claudia.nunez1@unmsm.edu.pe
	18	Joel Jefferson Cuenca Chacca	48667693	joel.cuenca@unmsm.edu.pe

	19	Cristina Valeria Romero ciudad	73189681	cristina.romero1@unmsm.edu.pe
	20	Vannya Yadira Aylas Torres	60789436	vannya.aylas@unmsm.edu.pe
	21	Angela Patricia Vilchez Yasuda	72885442	angela.vilchez@unmsm.edu.pe
	22	Maria Antonia Yupanqui Pimentel	72284500	maria.yupanqui@unmsm.edu.pe
	23	Lourdes Aida Yupanqui Pimentel	72284495	lourdes.yupanqui@unmsm.edu.pe
	24	Roger Layme	72706514	roger.1792andre@gmail.com
	25	Elizabeth Quispe Garay	45009153	elizabeth.quispe11@unmsm.edu.pe
	26	Jhovanna Mayra Yarin Carrizales	72880766	jhovanna.yarin@unmsm.edu.pe
	27	Dayana Amparo Castilla Ramirez	44066664	dayana.castilla@unmsm.edu.pe
	28	Jazmin Andrea Gomez Cruz	75431794	jazmin.gomez@unmsm.edu.pe
	29	Jazmín Melanie Fanning Pianto	75132425	jazmin.fanning@unmsm.edu.pe
	30	Mirjana Carla Olaya Llaque	72691178	mirjana.olaya@unmsm.edu.pe
INGRESARON SIN INSCRIBIRSE	31	Daniela Ferrerira	-	-
	32	Ana Paola Apaza Chiara	-	-
	33	Edy Salas Santisteban	-	-
	34	Juan Anderson More Bayona	-	-
	35	Eliana Icochea	-	-
	36	Andrea Pastor Guevara	-	-
	37	Cairel Palza	-	-
	38	Amilquer Moreno Sinche	-	-
	39	Sebastian Gutierrez Grijalva	-	-

	40	José Humberto Rodríguez Callan	-	-
	41	Jimny Joel Nuñez Delgado	-	-
	42	Andrea Cavassa	-	-
INFORMÁTICA	43	Andrés Trujillo Peña	informatica.fmv@unmsm.edu.pe	

	ASISTIÓ
	NO ASISTIÓ

7. FIRMAS DE LOS MIEMBROS DEL JURADO

 <p>Firmado digitalmente por GONZALEZ ZARIQUIEY Armando Emiliano FAU 20148092282 soft Motivo: Soy el autor del documento Fecha: 16.01.2023 11:54:43 -05:00</p>
Firma
MV. PhD. Gonzalez Zariquiey, Armando Emiliano
Apellidos y Nombres
PRESIDENTE

 <p>Firmado digitalmente por GONZALEZ VELIZ Rosa Isabel FAU 20148092282 soft Motivo: Soy el autor del documento Fecha: 11.01.2023 12:45:30 -05:00</p>	 <p>Firmado digitalmente por CASTRO SANGUINETTI Gina Ruth FAU 20148092282 soft Motivo: Soy el autor del documento Fecha: 04.01.2023 11:07:30 -05:00</p>	 <p>Firmado digitalmente por RAMIREZ VELASQUEZ Mercy Gisela FAU 20148092282 soft Motivo: Soy el autor del documento Fecha: 11.01.2023 11:48:10 -05:00</p>
Firma	Firma	Firma
Blga. Mg. González Véliz, Rosa Isabel	MV. Mg. Castro Sanguinetti, Gina	MV. Mg. Ramírez Velásquez, Mercy Gisela
Apellidos y Nombres	Apellidos y Nombres	Apellidos y Nombres
ASESOR DE LA TESIS	MIEMBRO JURADO	MIEMBRO JURADO



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Vicerrectorado de Investigación y Posgrado



CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, Rosa Isabel González Véliz en mi condición de asesor acreditado con la RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0040-EPMV/FMV-2022 de la tesis informe de investigación, cuyo título es **"PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS DE LA INFLUENZA TIPO A EN AVES REPRODUCTORAS DEL DEPARTAMENTO DE LIMA"**, presentado por el bachiller José Alonso Callupe Leyva para optar el título de Médico Veterinario CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante el software de similitud textual, el documento evaluado cuenta con el porcentaje de 12% de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional**.

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del título correspondiente.

DNI: 10300467

Mg. Lic en Biol Rosa González Véliz



DEDICATORIAS

A mi madre Ana Maria, mi padre José Luis y mi mascota Krista por ayudarme a realizar mis metas, sin ellos no lo habría logrado.

A mis profesores de la universidad que me formaron académicamente y me brindaron sus enseñanzas para culminar esta linda carrera.

A mis amigos de colegio y de la universidad con los que compartí agradables momentos.

AGRADECIMIENTOS

A mi mejor amigo Edy Salas por ser mi amigo por más de 15 años y brindarme apoyo y consejo durante todos estos años.

Al laboratorio de patología aviar de la facultad de Medicina Veterinaria que me brindo el apoyo y los equipos necesarios para realizar la tesis y poder culminarla con éxito.

A mi directora de tesis, la Dra. Rosa Isabel González Véliz, por brindarme la confianza y oportunidad de realizar esta tesis, le estaré siempre agradecida.

A FONDECYT-CONCYTEC por la subvención del trabajo de tesis a través del Proyecto de Ciencias Básicas-FONDECYT con N Contrato N^o 02-2019-FONDECYT-BM-INC-INV. Sin su importante soporte financiero al desarrollo de la ciencia en nuestro país, no hubiera sido posible este estudio.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág
DEDICATORIAS	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE	iv
ABREVIATURAS	vii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
LISTA DE CUADROS	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Influenza Aviar	3
2.1.1 Importancia en salud pública	3
2.1.2 Importancia económica	6
2.1.3 Historia	8
2.1.4 Etiología	12
2.1.4.1 Taxonomía	12
2.1.4.2 Estructura viral	13
2.1.4.3 Nomenclatura científica	16
2.1.5 Replicación viral	16
2.1.6 Patogenicidad viral	18
2.1.7 Variación antigénica	19
• 2.1.7.1 Drift antigénico	19
• 2.1.7.2 Shift antigénico	20
2.1.8 Patotipos	20
2.1.9 Epidemiología	21
2.1.9.1 Distribución	21
2.1.9.2 Periodo de incubación	22
2.1.9.3 Excreción viral	22

2.1.9.4 Supervivencia del virus	23
2.1.9.5 Transmisión viral	24
2.1.9.6 Hospedadores y reservorios	25
2.1.10 Signos clínicos	28
• 2.1.10.1 Signos clínicos causados por virus de IABP	29
• 2.1.10.2 Signos clínicos causados por virus de IAAP	30
2.1.11 Lesiones	31
• 2.1.11.1 Lesiones causadas por virus de IABP	31
• 2.1.11.2 Lesiones causadas por virus de IAAP	32
2.1.12 Patogénesis	33
2.1.13 Inmunidad	34
2.1.14 Diagnóstico	35
2.1.14.1 Toma de muestras y aislamiento	35
2.1.14.2 Aislamiento del virus	36
2.1.14.3 Identificación del Virus	37
2.1.14.4 Pruebas serológicas	38
• 2.1.14.4.1 ELISA	38
• 2.1.14.4.2 Inmunodifusión en Agar Gel	39
2.1.14.5 Pruebas Moleculares	40
2.1.14.6 Diagnóstico diferencial	41
2.1.15 Prevención y control	41
III. MATERIALES Y MÉTODOS	44
Lugar de estudio	44
Materiales	44
• Muestras de suero	44
• Materiales y equipos	45
Método y procedimientos	46
Tamaño de muestra	46
Procesamiento de las muestras	46
• Prueba de ELISA competitivo	46
Prueba estadística	47
IV. RESULTADOS	49
V. DISCUSIÓN	51

VI. CONCLUSIÓN	55
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
VIII. ANEXO	68

ABREVIATURAS

ADN:	Ácido desoxirribonucleico
Å:	Amstrong
AGID:	Prueba de Inmunodifusión en Gel de Agar.
ARN:	Ácido ribonucleico
ARNm:	Ácido ribonucleico mensajero
CDC:	Centro para el control y prevención de enfermedades.
ELISA:	Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas
FAO:	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
HA:	Hemaglutinina
HA:	Hemaglutinación
HI:	Inhibición de la Hemoaglutinación
IA:	Influenza Aviar
IAAP:	Influenza Aviar de Alta Patogenicidad
IABP:	Influenza Aviar de Baja Patogenicidad
INEI:	Instituto Nacional de Estadística e Informática.
IVPI:	Índice de patogenicidad intravenoso
M:	Proteína matriz
MINAGRI:	Ministerio de Agricultura y riego
NA:	Neuraminidasa
nm:	Nanómetros
NP:	Nucleoproteína

OIE:	Organización Mundial de Sanidad Animal
OMS:	Organización Mundial de la Salud
OPS:	Organización Panamericana de la Salud
PAMV-1:	Paramixovirus Aviar Tipo 1
PCR:	Reacción en cadena de la polimerasa
pH:	Potencial de hidrógeno
RNP:	Ribonucleoproteína
RT-PCR:	Reacción de la cadena de polimerasa en transcripción reversa
SENASA:	Servicio Nacional de Sanidad Agraria.
SPF:	Huevos embrionados de pollos libres de patógenos específicos.
ul:	Microlitro
vIA:	Virus de Influenza Aviar

RESUMEN

La Influenza tipo A es una enfermedad causada por la infección del virus de la influenza tipo A que ocasiona severas pérdidas económicas y sociales en la población, siendo el Perú uno de los países libre de esta enfermedad. La vigilancia sanitaria y las medidas de bioseguridad, constituyen las principales herramientas de prevención mientras que una de las principales medidas en la vigilancia sanitaria es el monitoreo serológico de las aves de producción a través del ELISA siendo el más utilizado el tipo competitivo, el cual permite la detección de anticuerpos contra Influenza Aviar en diversas especies. El objetivo del presente estudio fue determinar la prevalencia de anticuerpos contra el virus de influenza tipo A en aves reproductoras de las provincias del departamento de Lima. Se analizaron 387 muestras de suero de aves reproductoras obtenidas del laboratorio de Patología aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos indistintamente del sexo o edad, a través de la prueba de ELISA competitivo. El 100% de las muestras analizadas resultaron negativas a la presencia de anticuerpos contra el virus de influenza tipo A, con una prevalencia de 0%. Se concluye que las aves analizadas no evidencian exposición previa al virus de influenza tipo A al no detectarse anticuerpos contra el agente.

Palabras clave: virus de Influenza tipo A, Aves reproductoras, ELISA competitivo

ABSTRACT

Avian influenza is a disease caused by influenza type A virus infection that causes severe economic and social losses in the population, Peru being one of the countries free of this disease. Sanitary surveillance and biosafety measures are the main prevention tools, in turn one of the main measures in health surveillance is serological monitoring of production birds through ELISA being the most used the competitive that allows the detection of antibodies against Avian Influenza in various species. The objective of this study was to determine the prevalence of antibodies against influenza type A virus in breeding birds in the department of Lima. 387 serum samples from breeding birds obtained from the Avian Pathology Laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine of the Universidad Nacional Mayor de San Marcos were analyzed regardless of sex or age through the competitive ELISA test. Of the 387 samples, 100% of them were negative for the presence of antibodies against the influenza type A virus, with a prevalence of 0%. It is concluded that the birds analyzed do not show previous exposure to influenza type A virus as no antibodies against the agent are detected.

Key words: Influenza type A virus, Breeding birds, Competitive ELISA

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Procedencia de las muestras de suero de las aves reproductoras.

Cuadro 2. Resultados obtenidos mediante la prueba de ELISA competitivo en aves reproductoras del departamento de Lima

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa con los focos de la enfermedad de Influenza Aviar entre el 01 de octubre de 2020 al 30 de setiembre de 2021.

Figura 2. Mapa con los focos de la enfermedad de Influenza Aviar entre el 01 de octubre de 2021 al 27 de julio de 2022.

Figura 3. Ilustración de la configuración estructural y genómica de las partículas virales de los virus de Influenza tipo A, B y C

Figura 4. Esquema del virus de Influenza A.

Figura 5. Detalles del segmento genómico de los Influenzavirus.

Figura 6. Péptidos sintetizados por los segmentos ARN del virus de Influenza Tipo A.

Figura 7. Replicación viral del virus de Influenza A.

I.- INTRODUCCIÓN

La Influenza aviar (IA) es una enfermedad de carácter infeccioso propiciado por los virus de influenza tipo A (vIA). El cual puede afectar tanto a aves de crianza tecnificada, aves de crianza extensiva, aves mascota, aves silvestres e incluso a mamíferos como los porcinos y los humanos. Debido a esto, esta enfermedad representa un grave problema de importancia en la industria animal y salud pública.

Los virus de influenza tipo A son proclives a mutaciones, por lo cual constituyen un potencial peligro zoonótico. Por este motivo, la OIE y la FAO han elaborado diversos manuales para implementar una adecuada vigilancia epidemiológica de esta enfermedad (FAO, 2007; OIE, 2021).

En el año 2002 ocurrió el primer brote de influenza aviar altamente patógena en Sudamérica, específicamente en Chile; ante esto el Servicio Nacional de Sanidad Agraria del Perú (SENASA) construyó un plan de acción para la prevención de IA, logrando posteriormente a través de un documento sustentado declarar al Perú, país libre de IA (2005). A pesar de que en estudios posteriores se lograron aislar en el país vIA de baja patogenicidad (IABP) en aves silvestres (Gherzi, 2009; Segovia; 2013), el Perú continúa siendo libre de influenza aviar en aves comerciales. Esto se ha logrado gracias al esfuerzo conjunto de los avicultores mediante el cumplimiento de las normas, así como la estricta vigilancia sanitaria realizada por el SENASA. Esta vigilancia se realiza mediante el monitoreo serológico de aves de crianza familiar, tecnificada y de combate a lo largo del territorio peruano (SENASA, 2020).

La avicultura en el Perú tiene una participación significativa dentro del valor bruto de la producción agropecuaria y constituye una actividad económica en pleno crecimiento (25.8% de valor bruto de la producción agropecuaria). En lo que respecta a las aves reproductoras la mayor cantidad se concentra en la costa, principalmente en las regiones de Lima, La Libertad, Ancash y Ica (MINAGRI, 2019).

El presente estudio se realizó a partir de muestras de suero sanguíneo de aves reproductoras de crianza tecnificada del departamento de Lima. Este tipo de crianza se caracteriza por los altos niveles de bioseguridad y un alto cuidado veterinario. Sin embargo, a pesar de esto estas aves se encuentran en contacto cercano con aves silvestres. Además, el SENASA no hace públicos los monitoreos serológicos que realiza. Por todos

estos factores, es necesario tener un conocimiento sobre el estatus de anticuerpos en las aves reproductoras del departamento de Lima.

El objetivo principal del estudio fue evaluar la prevalencia de anticuerpos contra el vIA, mediante la prueba de ELISA competitivo realizado en muestras de suero de gallinas reproductoras del departamento de Lima, los resultados obtenidos contribuirán a la vigilancia epidemiológica de la enfermedad, lo cual nos dará una visión sobre la situación actual de la influenza aviar en aves reproductoras de nuestro país.

II.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 INFLUENZA AVIAR

2.1.1 Importancia en Salud Pública

Aunque los virus de influenza tipo A en general no ocasionan infecciones en humanos, se han reportado casos esporádicos de esta enfermedad debido a la transmisión, ya sea directa o indirecta del vIA de aves a los humanos, especialmente después de haber tenido contacto con aves infectadas sin la debida protección (CDC, 2017).

Las aves, a diferencia de otras especies alojan todos los subtipos conocidos del vIA, estos virus pueden contagiarse a los humanos directamente de las aves, de los entornos contaminados por el virus aviar o a través de un hospedero intermediario, como el cerdo (CDC, 2015).

Las epidemias y pandemias de gripe son producida debido a la convergencia de dos circunstancias: la escasa o nula respuesta inmune de las personas frente a la infección viral y la aparición de un virus capaz de tener una transmisión sostenible de persona a persona (OMS, 2018). El virus de la influenza tipo A es capaz de evadir la respuesta inmune del hospedero, esto lo logra mediante la ausencia de un sistema de reparación genética de su material genético durante la replicación en los humanos; esto origina que se genere una nueva cepa en el hospedero. Estos cambios antigénicos conocidos como variación antigénica necesitan de una vigilancia sostenida de la condición mundial de la IA, generando cada cierto tiempo ajustes en la composición de las vacunas frente esta enfermedad (Echaniz, 2004).

Además, en algunos casos se puede producir una variación antigénica mayor el cual consiste en un cambio abrupto e importante en estos virus lo cual da como resultado la aparición de nuevas proteínas de hemaglutinina (HA) o nuevas proteínas de HA y neuraminidasa (NA) en los virus de influenza capaces de infectar seres humanos. Cuando ocurren estas variaciones la población afectada tiene nula o escasa inmunidad contra el nuevo virus lo que origina la aparición de pandemia (CDC, 2021).

Estas variaciones generalmente ocurren cuando una persona o un cerdo están coinfectados con un influenzavirus humano A y un influenzavirus aviar A, lo cual genera un nuevo virus con HA del virus aviar y los otros genes del virus humano. Los humanos al no tener protección contra esta nueva HA son más propensos a contagiar a otros sostenidamente y ser una amenaza de pandemia en la salud pública (CDC, 2015).

La primera descripción de un paciente con una enfermedad identificable como influenza se dio en el año de 492 a.C. siendo realizada por Hipócrates. Siglos más adelante, en 1580, en Italia se presentó la primera pandemia reconocida, la cual fue descrita como influenza planetaria; debido a unos fenómenos astrales ocurridos en la misma época del brote, esto fue el origen del nombre Influenza (García y Ramos, 2006). Entre los años 1918 a 1919 ocurrió una pandemia a gran escala, la cual fue mundialmente conocido como la Gripe Española, la cual dejó a su paso una mortalidad de aproximadamente 20 millones de personas según últimas estimaciones (Spreeuwenberg, 2018). Esta fue ocasionada por subtipo de virus H1N1 el cual según las investigaciones fue de origen aviar; además debido a que en esos años se aislaron casos de influenza en cerdos producidos por el mismo subtipo concluyendo que es muy probable que los cerdos hayan estado directamente involucrados en la transmisión a humanos (García y Ramos, 2006).

En los años siguientes se presentaron dos pandemias, una en 1957 causada por el subtipo H2N2 y otra en 1968 por el H3N2; estas cepas eran unas variaciones que presentaban genes de influenzavirus aviar: tres en 1957(HA, NA y ARN Polimerasa B1) y uno en 1968(N2). Posteriormente en 1996 se presentó un brote de gripe aviar originado por el subtipo de influenza aviar de alta patogenicidad H5N1, el cual condujo a infecciones humanas causando la muerte en algunos casos, sin embargo, no se llegó a demostrar la transmisión del virus de humano a humano, no siendo considerado una epidemia. Esta cepa ha ido circulando entre las aves del sudeste asiático causando varios

brotos menores y en 2005 se reportaron brotes en otros continentes como Europa y África (Lycett, 2019).

En 2009 se originó un nuevo brote de influenza aviar en aves comerciales de Europa, Asia y África causado el subtipo H5N1 que llegó a ocasionar varios cientos de muertes de seres humanos con rango estimado de mortalidad de 30% a 80%; afortunadamente no existió transmisión entre humanos de este virus lo cual evitó la muerte de millones de personas (Lycett, 2019).

A pesar de todos estos datos, las infecciones en humanos producidas por el virus H5N1 causan preocupación debido a su alto potencial pandémico, ante esto el gobierno de los Estados Unidos ha desarrollado una vacuna potencial contra este subtipo como parte de preparación ante una posible pandemia (CDC, 2022).

No sólo el subtipo de IAAP H5N1 ha sido el único que ha logrado infectar al ser humano, también están los subtipos H7 y H9 de origen aviar, y los subtipos H1 y H3 de origen porcino (OMS, 2014).

Así mismo en el 2009 se dio una pandemia causada por el subtipo H1N1, conocido como la gripe porcina, demostrándose que fue producto de la circulación de distintas cepas del virus en cerdos por al menos 10 años; pero se ha demostrado que estas cepas tenían segmentos de origen aviar que se remontaban hace 30 años (Smith et al, 2009).

En febrero de 2013, en las ciudades de Shangai y Anhui (China), se inició una epidemia de influenza aviar causada por el subtipo H7N9, el cual fue producto de la circulación de cepas de H7N9 y H7N7 en patos (Liu et al., 2013). Desde ese año han sido reportados 06 epidemias del virus en humanos con 1518 casos confirmados y 616 muertes (FAO, 2022).

La mayor parte de los casos confirmados se debe al contacto directo con aves infectadas en los mercados de aves de corral vivas, sin embargo, se ha demostrado que existe transmisión limitada entre humanos, principalmente entre familiares o en hospitales (Huazhong et al., 2016).

A pesar de lo mencionado, no existen indicios que indiquen una transmisión prolongada entre los seres humanos. Se han encontrado casos de influenza en otros países que no sean China continental, Hong Kong o Macao, pero en su totalidad estas infecciones se originaron por individuos que estuvieron en China días antes de presentar la infección (CDC, 2022)

Por lo tanto, el riesgo de que el H7N9 pueda originar una pandemia es bajo; sin embargo, debido a la mutación constante del virus, el potencial pandémico es preocupante y está catalogado como el virus con la mayor probabilidad de originar una pandemia, de la misma manera también es el virus de mayor riesgo en desencadenar un alto impacto en la salud humana, si el virus lograra tener una transmisión prolongada entre seres humanos, esto según la herramienta de evaluación de riesgo de Influenza (CDC, 2021).

Existen otros subtipos de influenza aviar altamente patógeno (IAAP) que han logrado traspasar la barrera ave-humano tales como el H5N6 que en 2014 ocasionó los primeros casos en seres humanos en China, produciendo hasta la fecha 51 casos confirmados y 25 muertes (CDC, 2021) y el H5N8, del cual se reportó en febrero de 2021 siete personas infectadas con esta cepa en una granja avícola al sur de Rusia, todos estos casos fueron reportados asintomáticos o con signos leves de influenza. Estas cepas a diferencia del H5N1 o H7N9 tienen un riesgo bajo de originar una pandemia (ECDC, 2021).

2.1.2 Importancia Económica

El sector avícola en nuestro país ha tenido una alta importancia, aumentando exponencialmente en las últimas décadas registrándose en los últimos 20 años un crecimiento promedio anual de 6.9%, esto fue moderadamente mermado por la pandemia teniendo para 2021 sólo un crecimiento de 3.06% (INEI, 2021). Las IA origina graves pérdidas económicas las cuales dependen de varios factores, como la cepa del virus, el tipo de ave que logra infectar, el número de granjas afectadas, los métodos de control-erradicación y la rapidez con la que serán efectuadas estas medidas (Swayne y Halvorson, 2008).

Las consecuencias derivadas de una infección de una IAAP se resumen en muerte de miles de millones de aves por la enfermedad o por el sacrificio que se realiza a las aves restantes, la pérdida de una fuente de ingreso principal en los avicultores pequeños y las grandes repercusiones en la inocuidad de los alimentos y la seguridad alimentaria (FAO, 2022).

Desde el año 1959 se tiene antecedentes de brotes de IAAP en el mundo, lo cual ha originado altas pérdidas económicas, por ejemplo, en Italia en 1999 debido a un brote se tuvieron que sacrificar 16 millones de aves (Nin y Falconi, 2006). Sólo en el

continente asiático, se ha estimado unos 10 mil millones de dólares en pérdidas correspondientes al sector avícola (FAO/OIE/OMS, 2005).

En lo que respecta a Sudamérica, el único país afectado ha sido Chile teniendo su primer brote en 2002 producido por el subtipo H7N3, por el cual tuvo que sacrificar 465 mil gallinas y 18 mil pavos teniendo unas pérdidas de 31 millones de dólares (Verdugo, 2004). Posteriormente en 2016 se presentaron dos brotes de IABP originado por el subtipo H7N6 lo que ocasionó la muerte de 5534 aves y el sacrificio de 385 mil pavos (SAG, 2017). Finalmente, en 2019 se detectaron cuatro brotes de IABP H7N6 sacrificando en el proceso más de 65 mil pavos. Actualmente el país es declarado libre de Influenza Aviar (SAG, 2020).

Cuando se presenta un brote de IA, se debe tomar la decisión de vacunar o de erradicar a las aves, lo cual depende de la condición de la avicultura en el país y de su propia economía. Se han creado diversos programas de erradicación de la influenza aviar, los cuales han logrado que se emitan reportes con mayor precisión en lo que corresponde al número de aves erradicadas y las pérdidas económicas que involucran la mortalidad, morbilidad, la eliminación de las aves, la limpieza y desinfección de las instalaciones, la cuarentena, la vigilancia sanitaria y las indemnizaciones pagadas por las aves. Los costos indirectos, que abarcan todas las pérdidas externas al sector avícola, los cuales comprenden la incapacidad de realizar exportaciones de aves, la pérdida de ingreso por parte de los granjeros y las pérdidas por la disminución del consumo de las aves, lo cual hace que las pérdidas escalen fácilmente de 5 a 10 veces más lo previsto (Swayne y Halvorson, 2008).

Nuestro país debe aprender de los países asiáticos las formas de prevenir y controlar esta enfermedad. En el 2006 el Banco Interamericano de Desarrollo gestó distintos panoramas en América Latina concluyendo que invertir en un plan de prevención de brotes de IAAP en las granjas avícolas era lo indicado y originaria un ahorro de por lo menos US\$1.200 millones en el sector avícola.

Evaluar la patogenicidad de un vIA para determinar si es de alta o baja patogenicidad, es primordial en el desarrollo de medidas de control frente a la enfermedad, el impacto del brote en el comercio internacional y las posteriores medidas de prevención. La IAAP es una enfermedad catalogada en la lista A de la OIE y ha sido requerida como un muro comercial para resguardar a los países o regiones de la entrada de esta enfermedad que no solo traería pérdidas a nivel económico sino dependiendo de

la cepa en cuestión afectada originaria pérdidas a nivel humano (Swayne y Suarez, 2000).

2.1.3 Historia

El primer caso de influenza aviar fue descrito en Italia en 1878 bajo el nombre de plaga aviar, sin embargo, el agente causal no fue aislado hasta 1902 [A/Chicken/Brescia/1902 (H7N7)], siendo el primer aislamiento del virus de influenza. Posteriormente se describieron diversos casos con su respectivo aislamiento del virus de influenza (subtipo H7) por toda Europa (Horimoto y Kawaoka, 2001).

El científico Hirst, en 1941 detectó la actividad hemaglutinante de los virus de influenza y Lush en 1943 sustentó la prueba de inhibición de la hemaglutinación para lograr diferenciar el virus de Influenza aviar y de Newcastle (Hirst, 1941, Lupiany y Reddy, 2009).

Sin embargo, no fue hasta 1955 que se descubrió que la plaga aviar era causado por el virus perteneciente al grupo de los Influenzavirus tipo A basado en la presencia de la ribonucleoproteína específica del tipo de virus de influenza tipo A (Lupiany y Reddy, 2009).

A partir de las pandemias de influenza humana de 1957 y 1968 se profundizó la investigación de la naturaleza de los Influenzavirus tipo A para lograr conocer el origen de las cepas causante de las pandemias. Durante esta vigilancia la mayor parte de aislados de vIA no patogénicas se realizó a partir de muestras de aves silvestres, aves cautivas y pavos, gallinas y patos domésticos. Con todos estos datos se demostró que el vIA está presente de manera ubicua en todas las aves, principalmente en las aves acuáticas. Por esta misma época se aislaron cepas de alta patogenicidad del subtipo H5 en pollos de Escocia y golondrinas de mar de Sudáfrica. Estos hallazgos diferenciaron dos tipos de vIA por su virulencia: cepas altamente virulentas que causan enfermedad y mortalidad en las aves afectadas y cepas de baja virulencia que causan enfermedad leve o infecciones sin signos observables (Horimoto y Kawaoka, 2001).

Entre esas fechas se produjeron diversos aislamientos de cepas los cuales llegaron a la hipótesis de que todos los virus subtipos H7 y H5 eran virus de IAAP, sin embargo, años más tarde esta hipótesis fue desmentida, cuando en 1971 se aisló en Oregón un virus subtipo H7 en pavos comerciales, el cual no causaba infección para

pollos. Desde ese año, se han determinado muchos otros virus de influenza tipo A de los subtipos H5 Y H7 de diferentes especies de aves en distintas zonas del mundo, originando la mayoría de estas un cuadro sin signos clínicos, y cabe destacar que históricamente, los problemas de enfermedad que han originado pandemias han sido causados por virus de los subtipos H5 y H7 (Easterday *et al.*,1997)

En los principios de la década del 70 la prueba de Inmunodifusión en Agar Gel fue reconocida como prueba tamiz internacional para el diagnóstico serológico y de vigilancia de la influenza aviar. En años posteriores se evidenció que las aves silvestres del orden Anseriformes eran los hospederos naturales y principales reservorios del vIA y en los finales de la década del 70 se demostró que el sitio de corte de la hemaglutinina era el principal determinante de la virulencia de los Influenzavirus tipo A (Buscaglia, 2004).

En 1981 en el primer Simposio Internacional de la enfermedad de Influenza Aviar, se cambió de manera oficial el nombre de la enfermedad de peste o plaga aviar por Influenza aviar de alta patogenicidad, y desde esa fecha cada cierto año se realizan estos simposios teniendo como ejemplo los realizados en 1986, 1992, 1997 y 2002, (Buscaglia, 2004).

En lo que respecta a Sudamérica, en el año 2002 por primera vez se aisló una cepa de alta patogenicidad en aves comerciales; dicho aislamiento ocurrió en el país de Chile y fue causado por la cepa H7N3. Gracias a las oportunas medidas de control realizadas Chile fue declarado oficialmente país libre de influenza aviar 3 meses después del aislamiento de la cepa (Rojas y Moreira, 2002). Debido a la aparición de este brote, nuestro país a través del SENASA elaboró una Resolución Jefatura que contenía un plan de contingencia para la prevención y control de un brote de Influenza Aviar (SENASA, 2002).

La primera pandemia de influenza aviar que afecto en gran medida a la industria avícola se dio en 2005 cuando se aislaron cepas virales de H5N1 en el sudeste asiático, Europa y África ocasionando graves pérdidas económicas en los países de las regiones mencionadas (Chen *et al.*, 2005).

En 2005 el SENASA, preparó un Documento Sustentatorio para declarar a nuestro país libre de Influenza Aviar a través de una Resolución Jefatural (SENASA 2005). A la par, en Colombia fueron detectados anticuerpos frente el subtipo H9N2 en

pollos broiler, sin embargo, no se llegó a aislar ningún virus y no se reportaron más casos desde esa fecha (Peacock *et al.*, 2019)

En nuestro país principalmente se han realizado estudios para aislar el virus de influenza tipo A en aves silvestres, aislando nueve cepas virales de IABP subtipo H10N9, H3N8, H4N5 y H13N2 de 27 especies de aves silvestres del departamento de Lima (Gherzi, 2009) y siete cepas de IABP H12N5 de 18 especies de aves silvestres de la zona de Puerto Viejo (Segovia, 2013). En lo que respecta a aves comerciales se cuenta con un único estudio realizado en patos comerciales en el cual no se llegó a aislar el virus de influenza tipo A (Valladares, 2015).

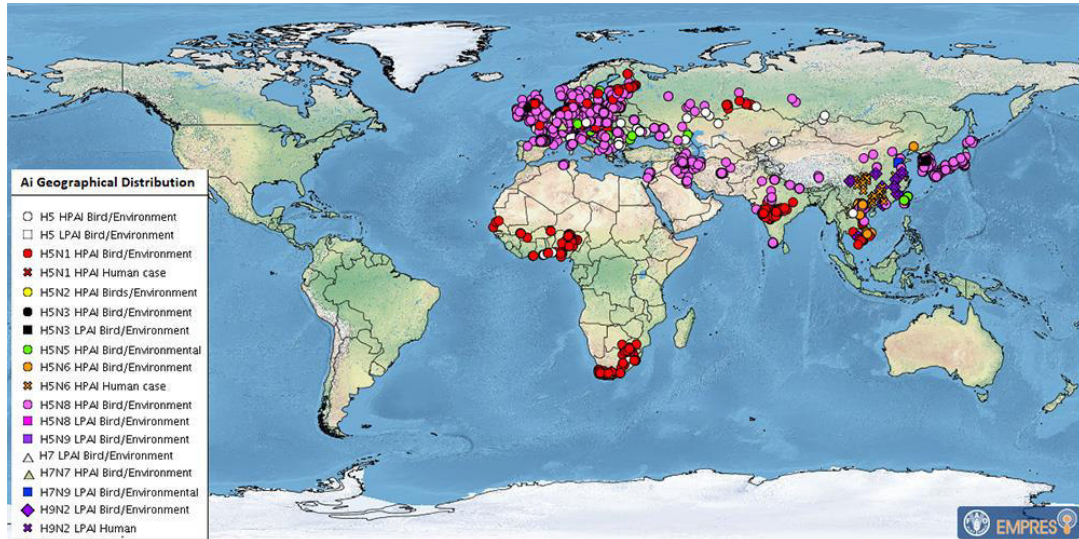
En lo que respecta a aves reproductoras se tiene evidencia que el primer brote ocurrido en Chile afectó a 540 mil aves reproductoras de las cuales murieron 110 mil por la enfermedad y el resto tuvo que ser sacrificado (Berrios, 2002), además el brote ocurrido en 2012 en Jalisco, México también afectó a estas aves. Este brote fue ocasionado por el virus de IAAP H7N2 y ocasionó la eliminación de 22.4 millones de aves entre reproductoras y gallinas de postura (Heneidi, 2018). En nuestro país a la actualidad no ha habido casos aislados de influenza aviar en aves reproductoras, el SENASA y las más grandes empresas avícolas periódicamente realizan monitoreos serológicos para determinar la presencia de anticuerpos contra la enfermedad (SENASA, 2021)

En el año 2020 y 2021 y comienzos de 2022 se presentaron numerosos casos de IAAP y IABP en diversas partes del mundo, especialmente en Europa y el Sudeste Asiático. Estos datos se actualizan a medida que tanto la FAO como la OIE reciben información detallada de la presencia de nuevos brotes (OIE, 2021; FAO, 2022).

En la figura 1 se perciben los numerosos focos de influenza aviar en aves domésticas, silvestres y seres humanos que han ocurrido entre el 01 de octubre de 2020 al 30 de setiembre de 2021. En América no se han reportado casos, cosa que no ocurre en Europa y Asia en donde existen muchos casos regularmente, especialmente de la cepa H5N8, además se han reportados casos de influenza humana en el sudeste asiático. Por otro lado, en la figura 2 se observan los diversos brotes, pero entre el 01 de octubre de 2021 al 27 de julio de 2022. A diferencia del cuadro anterior se reportaron casos en América de la cepa de IAAP H5N1, la cual también fue reportada en Europa, Asia y

África. Igualmente se reportaron casos en humanos producidas por las cepas de IAAP H5N6 y la cepa de IABP H9N2 en el sudeste asiático.

Figura 1. Mapa con los focos de la enfermedad de Influenza Aviar entre el 01



de octubre de 2020 al 30 de setiembre de 2021. Fuente OIE, 2022

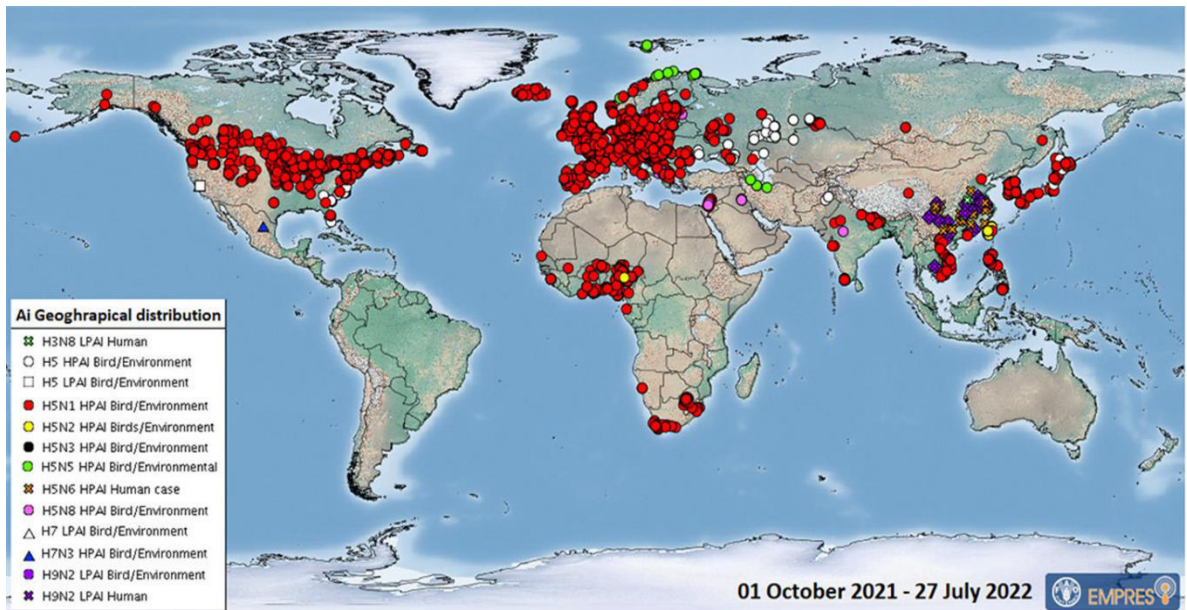


Figura 2. Mapa con los focos de la enfermedad de Influenza Aviar entre el 01 de octubre de 2021 al 26 de enero de 2022. Fuente OIE, 2022

2.1.4 Etiología

2.1.4.1 Taxonomía

El virus de la Influenza aviar es un virus perteneciente a la familia *Orthomyxoviridae*, genero *Influenzavirus A* y la especie *Alphainfluenzavirus influenzae*. (ICTV, 2021).

Con respecto a los otros tipos, el Tipo B sólo se ha aislado en humanos produciendo Influenza estacional, el tipo C se detectan con menos frecuencia y suele causar infecciones leves y el tipo D sólo ha sido aislado en el ganado y no causan infección en el ser humano (CDC, 2021). Los Influenzavirus tipo A son los únicos capaces de originar infección y enfermedad en las aves, si bien también son capaces de causar infección en otras especies animales e incluso a los humanos siendo los causantes de las epidemias y pandemias de la Influenza (CDC, 2022).

Estos distintos tipos de Influenza se clasificaron en base de la especie que afectan además de las características antigénicas de sus proteínas externas (M y NP) y el grado de variabilidad antigénica en los segmentos de ARN y las glicoproteínas de superficie que poseen. De esta manera los influenzavirus tipo A y tipo B poseen 8 segmentos de ARN a diferencia de los virus de Influenza tipo C que sólo posee 7 segmentos, por otro lado, los virus de Influenza tipo A y tipo B poseen dos glicoproteínas: hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA) presentando el tipo A la mayor diversidad de HA, mientras que los virus de Influenza tipo C y D que poseen una sola glicoproteína: la proteína HEF (hemagglutinin esterase fusion protein) (Salazar *et al.*, 2010)

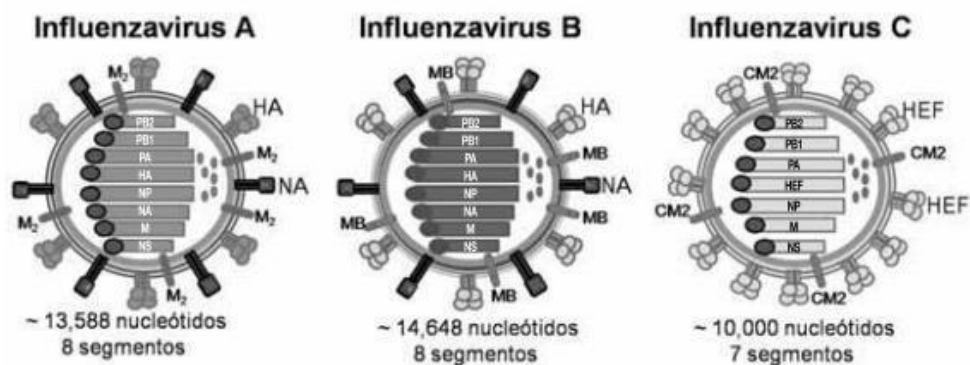


Figura 3. Ilustración de la configuración estructural y genómica de las partículas virales de los virus de Influenza tipo A, B y C. Fuente: Salazar et al., 2010

2.1.4.2 Estructura del virus

Los viriones de Influenzavirus son partículas ultramicroscópicas de conformación ovoide y esférica con un diámetro promedio de 80-120 nm, sin embargo, se han observados cepas de 80-120nm de ancho con de 2000 nm de largo (Carrada, 2010).

El virión morfológicamente está compuesto en mayor parte por la proteína matriz M1, la cual se encuentra envuelta por una doble capa de lípidos derivada de la célula hospedera para constituir la envoltura externa o cápside. En la superficie externa, ancladas a esta, se encuentran las dos glicoproteínas, la hemaglutinina (HA) la cual es una barra trimétrica con cabeza esférica de 134 Å y la neuraminidasa (NA), que posee la forma de un champiñón con cabeza tetramérica de 60 Å (Carrada, 2010).

Por otro lado, en el núcleo interior (core) se presentan 8 segmentos de ARN helicoidal de polaridad negativa los cuales se encuentran unidos a la nucleoproteína (NP) y cada uno de estos segmentos presenta 3 polimerasas: polimerasa ácida, polimerasa básica 1 (PB-1) y polimerasa básica 2 (PB-2) (Medina y García, 2011).

Los segmentos del 1 al 6 son monocistrónicos, codificando un solo péptido mientras que los dos últimos segmentos son policistrónicos sintetizando dos polipéptidos cada uno, en total el virión puede llegar a sintetizar 10 polipéptidos funcionales. La proteína M1 es el soporte principal del virión y la que sostiene a la cápside mientras que la M2 sirve de canal iónico, importando protones que penetran dentro del endosoma de la célula del hospedero, facilitando el funcionamiento de la HA y por ende permitiendo

la entrada del virus a la célula huésped, por último, el péptido NS1 tiene la función de interferir con la síntesis del interferón lo que lo transforma en un factor de virulencia (Digard, 2009).

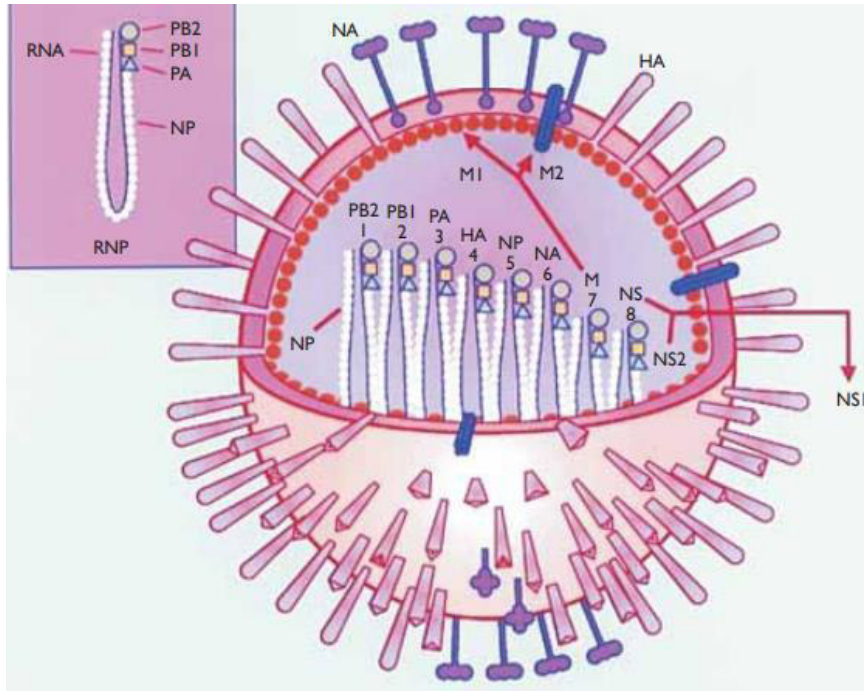


Figura 4. Esquema del virus de Influenza A. Fuente: Carrada, 2010.

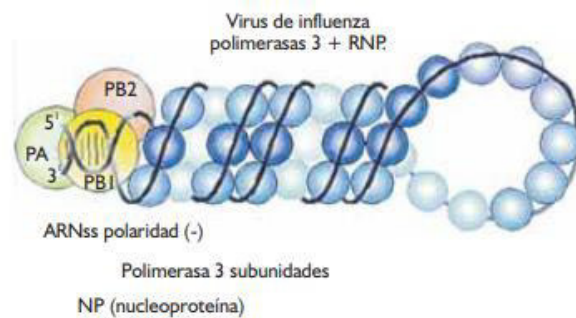


Figura 5. Detalle del segmento genómico de los Influenzavirus. Fuente: Carrada, 2010

Los virus de la influenza tipo A están divididos por subtipos de acuerdo con las dos glicoproteínas de la superficie viral: la HA y NA. En la actualidad se conocen 18 subtipos de HA (H1-H18) y 11 subtipos de NA (N1-N11) las cuales pueden originar muchas combinaciones y generalmente todos pueden infectar a las aves, con la excepción de los subtipos H17N10 y H18N11 que solamente han sido encontrados en murciélagos (CDC, 2017).

Segmento ARN	Tamaño (nt)	Polipeptidos	Función
1	2341	PB2	Transcriptasa: ligadura de la caperuza (Cap.)
2	2341	PB1	Transcriptasa: alargamiento molecular
3	2233	PA	Transcriptasa: proteasa
4	1778	HA	Hemaglutinina trimérica
5	1565	NP	Nucleoproteína: unida al ARN, transportadora del ARN viral (v-ARN) del núcleo al citoplasma
6	1413	NA	Neuraminidasa: liberación de viriones maduros
7	1027	M1	Proteína matriz, soporte de la cápside
		M2	Proteína, sirve como canal iónico.
		NS1	No estructural, inhibe la síntesis del interferón, afecta el transporte y traslación de la ARN
8	890	NS2	No estructural, función poco conocida

Figura 6. Péptidos sintetizados por los segmentos ARN del virus de Influenza Tipo A.
Fuente: Carrada, 2010

La HA es una glicoproteína compuesta de dos segmentos: el péptido HA1 se encuentra en la cabeza y es hipervariable presentando cinco receptores de anticuerpos específicos y un sialoreceptor y el péptido HA2 el cual se encuentra en la región basal y sirve de punto de anclaje a la cápside del virión. Esta proteína constituye el principal factor de virulencia regulando la especificidad y virulencia del virus de Influenza (PDB, 2006).

La NA es una glicoproteína formada por 450 aminoácidos entrelazados, aproximadamente cada virión presenta 100 moléculas de NA, esta proteína está compuesta de 4 subunidades idénticas y tiene como funciones catalizar la ruptura del ácido siálico, lo cual permite libera al virión en la célula, además impiden la formación de conglomerados de viriones evitando la inactivación del virus y propagando su infección en el aparato respiratorio (Gubareva *et al.*, 2000)

La nucleoproteína se una al ARN del virus formando la ribonucleoproteína cuya función es la transcripción, aunque también está involucrado en la adaptación viral dentro de la célula del huésped. La Proteína M1 se distribuye en forma de capa y da la estructura al virión además de encapsular a la ribonucleoproteína, cada una de estas proteínas está compuesto por 252 aminoácidos y se aproxima que en cada virión están presentes 3000 de estas moléculas. En el caso de la proteína M2 está constituida por 97 aminoácidos, en cada virión hay entre 20 a 60 moléculas de esta proteína y está formada por cuatro monómeros los cuales se expresan en la membrana citoplasmática de la célula afectada formando el canal iónico (Furuse *et al.*, 2009).

La composición viral del virión es de aproximadamente 70% de proteínas, 20% de hidratos de carbono, 5-8% de lípidos y 1% de ARN (Knipe et al. 2007). Los carbohidratos están constituidos dentro de los glicolípidos y glicoproteínas e incluyen galactosa, manosa, fucosa y glucosamina (Swayne, 2013)

2.1.4.3 Nomenclatura Científica

La nomenclatura estándar internacional para la designación de las cepas de virus de Influenza fue establecida en 1980 por la WHO. La denominación de las cepas del virus de influenza incluye en primer lugar el tipo (A, B, C y D), la especie que fue afectada por la cepa, el lugar geográfico donde se aisló la cepa en la cual se puede colocar el país, región, estado, provincia o ciudad, el número de la cepa y finalmente el año en que fue aislado el virus seguido del subtipo antigénico designado por la hemaglutinina y neuraminidasa. En lo que respecta a los influenzavirus tipo A, el subtipo se coloca entre paréntesis. Como ejemplo tenemos la siguiente cepa: “A/duck/Shanghai/1045/97 (H5N1) (WHO, 1980)

2.1.5 Replicación viral

Los estadios de la replicación viral han sido estudiados en gran detalle. El inicio de la infección viral es la inhalación o ingestión de viriones infecciosos al cuerpo, ya sean de virus de IABP o IAAP, seguidamente el ingreso del virus a las células de la mucosa local esta mediada por la unión del segmento HA1 de la hemaglutinina con mucoproteínas de la membrana celular que contienen en su estructura el grupo químico N-acetil-neuramínico (Ácido siálico). Por otro lado, la neuraminidasa tiene la función opuesta impidiendo el secuestro de los viriones en la membrana celular lo que resulta en la propagación de la infección (Swayne, 2013).

La especificidad de la unión entre la hemaglutinina y los receptores celulares esta mediada por el hospedero. Los virus de Influenza tipo A han evolucionado para adaptar el lugar de unión al receptor celular mediante dos tipos de enlaces, los cuales se caracterizan por el tipo de unión a la galactosa: terminaciones de sialoligacáridos unidos a galactosa mediante enlaces (α - 2,3) presentes en el epitelio digestivo de las aves o por enlaces (α - 2,6) presentes en el epitelio respiratorio de los mamíferos; aunque se ha

demostrado que los tigres poseen este tipo de receptores en su epitelio digestivo (Roger y Paulson, 1983). La completa excepción a esta regla son los cerdos lo cuales poseen receptores con enlaces (α - 2,3) y (α - 2,6) convirtiéndolos en los hospederos intermediarios para generar una pandemia de influenza (Ito *et al.*, 1998).

Posterior a la inspección inicial mediante endocitosis el virión es englobado hasta llegar a sobrepasar la vesícula endosómica, posteriormente es acidificada por importación de protones hasta llegar a un pH de 5.0, esto mediado por la proteína M2. Luego la glicoproteína HA por enzimas similares a la tripsina es escindida en dos péptidos secundarios: HA1 que presenta 329 aminoácidos con una porción NH₂ terminal y HA2 con 221 aminoácidos, al liberarse este último segmento se expone el péptido de fusión el cual es el causante de la conexión de la cápside viral con la membrana celular. Además, la acidificación producida dentro del virión produce una inestabilidad en la unión de la proteína M1 y la ribonucleoproteína, esto mediado con la formación de poros de fusión entre la membrana celular y envoltura del virus produce que las RNPs se separen de la proteína M1 y se liberen al citoplasma (Digard, 2009)

Al separarse la RNP de la proteína M1 la molécula es transportada al núcleo de la célula donde a través del complejo transcriptasa se sintetiza ARNm a partir del ARN viral de polaridad negativa. Este consiste en copias incompletas del ARN viral y son encapuchados y poliadenilados para ser posteriormente traducidos en el citoplasma celular. A la vez se produce la ampliación del genoma viral a través de una copia completa del ARNv de polaridad positiva denominado ARN complementario (ARNc), el cual sirve para genera más copias completas del ARNv. Estas interacciones son caracterizadas por el complejo de polimerasa del propio virus. (Neumann, 2004).

El ARNm de los genes M y NS presentan un corte obteniendo en el proceso dos ARNm que luego se traducirán en las proteínas NS1, NS2 y M1 y M2 y posteriormente alcanzarán el sitio donde serán liberados los nuevos viriones por diferentes vías. Las glicoproteínas de la superficie y la proteína M2, son sintetizadas en el retículo endoplásmico y son ancladas en la membrana plasmática, en este lugar es donde las glicoproteínas se unen a la proteína M1. En lo que respecta a los 8 segmentos de genes virales transcritos y las proteínas internas traducidas se amalgaman y emigran hacia la membrana del virus uniéndose a la proteína M1, la cual interactúa con las RNPs y colas citoplasmáticas de las glicoproteínas formando así una unión entre la nucleoproteína y las proteínas de la membrana externa. El proceso finaliza cuando la NA interacciona con los

receptores de ácido siálico para eliminar el ácido siálico, logrando de esta manera la eliminación del virus (Nayak *et al.*, 2004)

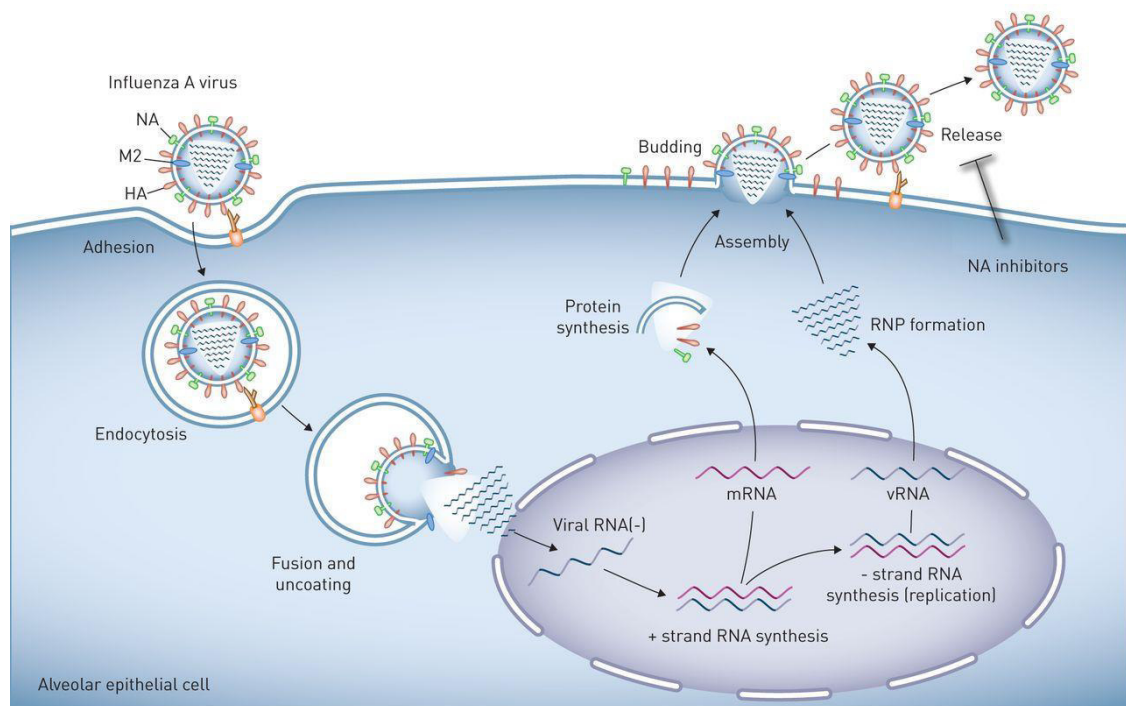


Figura 7. Replicación viral del virus de Influenza A. Fuente: European Respiratory Journal, 2015.

2.1.6 Patogenicidad del virus

El gen HA es el primordial determinante de la alta patogenicidad del vIA en pollos, pero a pesar de eso no es el único; un conjunto apropiado de los 8 segmentos del genoma se requiere para expresar al máximo el potencial de virulencia. La escisión de la proteína HA en las proteínas HA1 y HA2 es necesario para que el virus sea infeccioso y produzca múltiples ciclos de replicación (Bosch *et al.*, 1979).

La diferencia entre los virus de IAAP y IABP es la cantidad de aminoácidos básicos en la región final del prótido HA1, la cual se encuentra cercana al lugar de escisión. En el caso de los virus de IABP generalmente tienen sólo dos aminoácidos básicos del tipo arginina y lisina en la porción terminal, lo que lo hace escindible por proteasas similares a la tripsina, la cual solamente se encuentra en el epitelio digestivo y respiratorio, a diferencia de los virus de IAAP los cuales presentan múltiples aminoácidos

básicos en la porción terminal, lo cual lo hace reconocible por proteasas similares a la furina, que se encuentran presentes en muchas células del cuerpo; además en los virus de IAAP la HA es escindida antes del ensamblaje del virus lo cual incrementa exponencialmente el tropismo celular, lo que conlleva a la replicación en numerosos órganos viscerales, el sistema nervioso y cardiovascular, propiciando la enfermedad sistémica con alta mortalidad (Stieneke *et al.*, 1992)

2.1.7 Variación Antigénica

El virus de Influenza tipo A está caracterizados por su marcado polimorfismo, el cual está sustentado en la presencia de 18 subtipos de HA y 11 subtipos de NA. Esta diversidad genética se convierte en una variación genética, lo cual hace complicado su detección por parte del sistema inmune. Las HA y NA son consideradas la base de la respuesta inmune frente a los virus de influenza, dejando a las proteínas internas en un plano secundario (van Reeth, 2007).

Existen dos tipos de variaciones que afectan el desarrollo de los virus de Influenza tipo A: drift o variación menor y shift o variación mayor (Murphy y Webster, 1996)

2.1.7.1 Variación menor (Drift Antigénico)

Esta variación consiste en pequeños cambios o mutaciones en los segmentos genómicos del virus de Influenza tipo A que como resultado produce cambios en las glicoproteínas de la superficie viral. Estas proteínas son antígeno, lo cual significa que son reconocidos por el sistema inmune y son capaces de desencadenar la respuesta inmunitaria con la posterior producción de anticuerpos (CDC, 2021).

Estas mutaciones se presentan en forma de inserciones, deleciones de tripletes (secuencia de 3 nucleótidos de ARNm) y sustituciones de nucleótidos, los cuales son originados principalmente por errores de la enzima ARN polimerasa durante la transcripción y ocurren en cada uno de los ocho segmentos genómicos del virus, principalmente en el segmento que codifica la HA, esto da como resultado sustituciones de aminoácidos en los determinantes antigénicos; por lo cual la respuesta de los anticuerpos generados por infecciones o inmunizaciones anteriores se ve imposibilitada.

Estas mutaciones se acumulan en cada ciclo de transcripción y generan variaciones en la composición u objetivo de las proteínas que expresan, (Webster y Hulster, 2004).

La frecuencia con la que ocurren estas mutaciones es muy difícil de prever, pero mediante estudios se ha demostrado que las tasas de mutación son más altas para el gen HA, más bajo para el gen NA y escaso para el resto de genes (Webby *et al.*, 2000).

Estas variaciones en vIA que están presentes en aves silvestres es baja, más se vuelve pronunciada en el trayecto en el que virus infecta a aves comerciales. Debido a que estas variaciones están mediadas por la respuesta inmune del hospedero se ha demostrado que existe una asociación entre la vacunación de las aves comerciales y la mayor aparición de variaciones antigénicas en el campo (Lee *et al.*, 2004).

2.1.7.2 Variación Mayor (Shift Antigénico)

Estas variaciones implican un cambio total en la estructura antigénica del vIA, el cual afecta a la HA y NA, lo cual conlleva a la aparición de un nuevo subtipo distinto al que circulaba antes. Esto se origina cuando una misma célula es infectada por dos influenzavirus tipo A de diferentes especies, así ocurre que sus segmentos genómicos se reordenan mientras ocurre el ensamblaje formando una partícula viral completamente distinta (Webster y Hulse, 2004).

Algunas de este reordenamiento es posible que le confiera al virus ventajas para poder infectar a otras especies, y en general sustituyen a alguno de los virus que le dieron origen, como ocurrió en las pandemias de 1957 (H2N2) y 1968 (H3N2), en las cuales hubo un contacto directo entre aves comerciales y humanos. De esta manera se originaron dos nuevos subtipos: el H2N2 a partir del virus H1N1 humanos con el virus H2N2 humano y el H3N2 por la combinación de un virus H3 humano y H2 aviar (Belshe, 2005).

2.1.8 Patotipos

En lo que respecta a la patogenicidad los vIA están clasificados en dos patotipos: Influenza aviar de alta patogenicidad (IAAP) e Influenza aviar de baja patogenicidad (IABP); esta terminología estuvo originalmente basada en la mortalidad de pollos inoculados experimentalmente, mas en 1994 el criterio molecular fue añadido a la definición (USAHA, 1994)

Los virus de IAAP tienen un índice de patogenicidad intravenosa mayor a 1.2 en pollos libres de patógenos (SPF) de 06 semanas de edad, o en su lugar que cause al menos 60% mortalidad en pollos SPF de 04 a 08 semanas infectados vía intravenosa. En lo que respecta a los virus H5 y H7, los cuales a lo largo de la historia han sido generalmente catalogados como IAAP, sino llegan a cumplir los requisitos anteriores deben ser secuenciados para determinar si en la porción terminal de la proteína HA1 se presentan diversos aminoácidos básicos, si los aminoácidos presentes son similares a otros virus de IAAP aislados, se considera al virus aislado uno de alta patogenicidad (OIE, 2021).

A pesar de que todos los virus de IAAP que se han aislado hasta el momento pertenecen a los subtipos H7 y H5, han llegado a aislarse cepas de otros subtipos cuyos IVPI sean mayores a 1.2 o que presentaron una tasa de mortalidad de la menos 60% en pollos inoculados por vía intravenosa, mas no causaron mortalidad cuando fueron inoculados por vía intranasal y no presentaron en la porción terminal de la HA1 diversos aminoácidos básicos; del mismo modo se ha aislado un virus H4N2 de codorniz que presentaron múltiples aminoácidos básicos en la porción terminal pero con un valor de IVPI de 0.0, esto nos sugiere que en las cepas virales que no pertenezcan a los subtipos H5 o H7, la secuencia de aminoácidos en el sitio terminal no es prueba suficiente para declarar que se trate de un virus de IAAP (OIE, 2021).

Los virus de IABP son todos los virus de Influenza tipo A que no sean virus de IAAP en base a los criterios mencionados anteriormente, además cabe señalar que en general todas las cepas de IAAP en pollos son de baja patogenicidad en patos, excepto en determinadas cepas de IAAP H5N1 que han demostrado ser letales en patos jóvenes, mas no en adultos (Jackwood y Swayne, 2007).

2.1.9 Epidemiología

2.1.9.1 Distribución

Los virus de Influenza tipo A presentan una distribución mundial con aislamientos de África, Asia, Australia, Europa, Norteamérica y Sudamérica, además de evidencia serológica en infección en pingüinos del continente antártico (Morgan y Westbury, 1981). Desde 1981 los vIA son clasificados en IAAP y IABP (Swayne, 2007).

2.1.9.2 Periodo de incubación

Los virus de Influenza tipo A presentan un periodo de incubación muy variable, así tenemos que en aves inoculadas con el virus por vía endovenosa el periodo es de escasas horas, en aves silvestres infectadas naturalmente es de 3 días y en aves de crianza comercial es de 14 días. Adicionalmente se ha demostrado que pollos inoculados por vía intranasal muestran signos después de 24 horas. Esta variabilidad está dada por la dosis del virus. La ruta de infección, la especie afectada y la habilidad para detectar signos clínicos. En cualquier caso, para regulaciones internacionales, la OIE reconoce 21 días como el periodo de incubación, el cual es mucho más largo de lo anteriormente mencionado y se debe tener en cuenta que este periodo no es aplicable para todos los virus, especialmente en los virus de IABP, los cuales regularmente no causan signos clínicos en las aves (Swayne *et al.*, 2013).

Para fines de control y eliminación se utiliza el término de periodo infeccioso el cual abarca desde la exposición del virus hasta cuando el influenzavirus ya no es posible de ser detectado (Swayne *et al.*, 2013).

2.1.9.3 Excreción del virus

La excreción del virus se genera con anterioridad de la presentación de signos clínicos y es posible que dure más días que la enfermedad clínicamente diagnosticada, Es posible que la excreción viral comience 1 o 2 días tras la infección (Swayne *et al.*, 2013)

Por medio de estudios experimentales se ha logrado determinar el periodo de excreción del virus, así se tiene que el virus es capaz de seguir replicando y excretar el virus por más de 30 días en patos, más de 36 días en pollos, más de 45 días en faisanes y por más de 75 días en pavos; sin embargo, es posible que el virus logre persistir por varios meses, especialmente en granjas comerciales donde se ha podido recuperar el virus hasta 06 meses después de la mortalidad inicial de la parvada. Por este motivo es importante que cuando una granja sale diagnosticada como positiva a Influenza aviar, se le considere fuente de infección del virus hasta que las aves sean eliminadas, los galpones sean limpiados y desinfectados, ingrese un nuevo lote y no se obtengan valores del virus en las nuevas aves (Swayne *et al.*, 2013).

2.1.9.4 Supervivencia del virus

Los virus de Influenza tipo A son muy lábiles, son inactivados muy fácilmente por los rayos ultravioleta, son sensibles al pH ácido y sólo entre valores de pH de 6 a 8 son relativamente estables. Las temperaturas por encima de 60°C inactivan al virus, y para poder inactivar al virus se utiliza 56°C/3 horas o 60°C/3 minutos (SENASA, 2017).

Los vIA son fácilmente inactivados por los desinfectantes usados de forma natural. Así tenemos que el sulfato de sodio, los disolventes de lípidos, los agentes oxidantes, la beta propolactona y los detergentes son altamente efectivos en la inactivación del virus (Benedictis et al., 2007). Si las condiciones medioambientales son favorables, los virus pueden estar activos y sobrevivir por un periodo de tiempo prolongado, de esto se concluye que el medio ambiente posee el riesgo latente de permitir la transmisión de la infección entre animales domésticos y silvestres. Además, los virus pueden sobrevivir durante mucho tiempo en las heces, en presencia de materias orgánicas o en depósitos de agua, debido a esto último se considera que los medios acuáticos son el principal origen anual de reinfecciones en la mayoría de las aves acuáticas silvestres (Okazaki *et al.*, 2000).

Así se ha demostrado que la temperatura es el factor más importante en lo que respecta a la supervivencia del virus, siendo más prolongada en bajas temperaturas, por lo cual la persistencia del virus está ligada inversamente proporcional a la temperatura del agua (Brown et al, 2009). Así en 2016 se demostró que el vIA puede persistir por 01 año en aguas congeladas a -20°C, lo cual sugiere que las aguas de las regiones árticas pueden representar un importante reservorio ambiental del virus para las poblaciones de aves silvestres (Dalziel *et al.*, 2016).

En lo correspondiente al contenido fecal, se presenta una mayor tasa de supervivencia y capacidad infectiva del virus en comparación al medio ambiente libre, debido a la protección de la materia orgánica. De esta manera, se considera al contenido fecal el fómite de principal importancia en aves comerciales en lo que respecta a la propagación viral a través de transferencia mecánica, se ha demostrado que el virus puede sobrevivir por 35 días a 4°C y por más de 100 días en temperatura ambiente (Iglesias, 2011).

Por último, con respecto a los productos animales el virus puede seguir excretándose en cadáveres, especialmente en los tejidos de aves muy susceptibles, más el

compostaje reduce significativamente la estabilidad del virus. Esto se logra a través de colocar a los tejidos en temperaturas de 60-65°C por 5 minutos (Wilkinson, 2007). El tratamiento de la carne fresca posterior al sacrificio afecta en mayor medida en la sobrevivencia del virus, esto se da gracias a la acidificación que sufre la carne después de la muerte, la cual es capaz de inactivar el virus; sin embargo, en la carne congelada al no sufrir el proceso de acidificación es más vulnerable a seguir contaminada (EFSA, 2008). Finalmente, los huevos de consumo infectados con un virus de IAAP protagonizan un peligro potencial en la diseminación del virus, debido a que el huevo puede contener el virus tanto en la parte externa (cáscara), al haber tenido contacto con contenido fecal infectado; como la interna (clara y yema) de huevos cuyo origen proviene de aves infectadas (EFSA, 2008).

2.1.9.5 Transmisión viral

El virus de influenza tipo A se expone al medio ambiente a través de las fosas nasales, conjuntiva, boca y cloaca debido a que el virus se replica en los órganos respiratorios, renales, intestinales y reproductivos, además lo virus pueden ser detectados en las plumas, folículos de la pluma y glándulas uropigias resultando en la contaminación ambiental (Swayne *et al.*, 2013).

El virus es transmitido por contacto cercano entre ave susceptible y infectada o de forma indirecta a través de fómites o aerosoles, en este último el ser humano juega un rol muy importante. Debido a que el virus puede persistir por mucho tiempo en las heces, estas pueden dar lugar a equipo o vestimenta infectados con el virus haciendo a los fómites un principal medio de transporte (Easterday *et al.*, 1997).

Apenas tiene importancia el contagio vertical, sin embargo, se ha podido recuperar el virus de la cáscara y contenido interno de huevos procedentes de gallinas infectadas. A pesar de esto no se ha demostrado que exista riesgo de contaminación durante la incubación de los huevos, lo cual sea debido a las altas temperaturas a las cuales son sometidas los huevos durante el proceso de incubación sumado a que la mayoría de los virus de IAAP y IABP causan disminución de la producción de huevos limitando la posible transmisión vertical (Swayne *et al.*, 2013).

Debido a que es difícil encontrar el origen de contagio en los primeros brotes; es habitual responsabilizar a las aves silvestres de ello. En general, los influenzavirus aviar

de alta patogenicidad presentan una menor tasa de contagio y diseminación que los escasamente patógenos debido a que los primeros al causar elevada mortalidad liberan escasa cantidad del virus mientras transcurre la infección (SENASA, 2017).

De otra manera también es posible que la transmisión se produzca de manera directa a través aves domésticas infectadas presentes en crianza de traspatio, mercados locales, exhibiciones y actividades de entretenimiento como las peleas de gallos. En lo que respecta a los mercados que aún persisten hasta la actualidad funcionan como un reservorio del virus debido a que se congregan distintas especies de aves (Buscaglia, 2004).

Es posible la transmisión interespecies, especialmente entre especies de la misma familia taxonómica tales como gallinas, pavos y codornices de la familia Phasianidae, además también ocurrir transmisión entre diversos órdenes taxonómicos, un ejemplo de esto es la transmisión entre patos domésticos (orden anseriformes) a pavos (orden galliformes), mas es menos frecuente que ocurre este tipo de transmisión que entre las especies más estrechamente relacionadas (Swayne et al., 2013).

La transmisión del virus entre especies de diferentes clases filogenéticas es menos frecuente por lo cual es poco común las transmisiones de pollos a humanos, estas infecciones dependen de la distribución geográfica de los hospederos del virus, la edad y densidad de las aves y de la capacidad del virus de mutar en una cepa capaz de infectar otras especies (Swayne, 2000).

Las aves silvestres presentan un rol principal en la introducción inicial del virus de influenza tipo A en las aves comerciales, a través del contacto directo o indirectamente por agua o heces contaminadas; mas una vez que la infección ha sido establecida su rol se ve limitado a un menor o no tener alguno en la diseminación secundaria, la cual se da principalmente a través de los fómites de mayor manera que los aerosoles (Nettles *et al.*, 1985).

2.1.9.6 Hospederos y Reservorios

El virus de Influenza tipo A pueden infectar naturalmente a una variedad de aves silvestres y domésticas, en especial a las aves silvestres de hábitats acuáticos, es así que se han aislado de al menos 105 especies de aves el vIA representado en 13 órdenes distintos (Olsen, 2006):

- a) *Anseriformes*: Patos, gansos y cisnes
- b) *Charadriiformes*: Gaviotas y golondrinas marinas.
- c) *Ciconiiformes*: Cigüeñas y ibis.
- d) *Columbiformes*: Palomas.
- e) *Falconiformes*: Águilas, halcones y otros.
- f) *Galliformes*: perdices y faisanes.
- g) *Gaviiformes*: colimbos.
- h) *Gruiformes*: galletas y gallinas de agua.
- i) *Passeriformes*: miná, pinzones y pájaros tejedores.
- j) *Pelecaniformes*: Cormorán.
- k) *Piciformes*: Pájaro carpintero.
- l) *Podicipediformes*: Somormujos.
- m) *Procellariiformes*: Pardelas

Todos estos órdenes representan el 61% de las familias taxonómicas de aves conocidos, pero el actual número de especies infectadas es mucho mayor. Además, la mayoría de infecciones del vIA en aves silvestres no produce una enfermedad reconocible, con la excepción de algunas cepas del virus de IAAP H5N1 (Swayne *et al*, 2013).

Los *anseriformes* y *charadriiformes* constituyen los mayores reservorios del virus de IABP, estas aves se distribuyen mundialmente en todos los ecosistemas, excepto en las regiones más áridas y se caracterizan por viajar largas distancias durante el proceso migratorio lo que los convierte en potenciales distribuidores del virus de IABP entre países o continentes (Olsen, 2006).

En las aves silvestres el vIA se replica en las células del epitelio intestinal y son excretados en grandes cantidades por las heces, esto sumado a la supervivencia del virus en medios acuáticos permite la alta prevalencia del virus en aves acuáticas (Webster *et al.*, 1978).

Una de las características de las migraciones de las aves es que estas tienen numerosas rutas y no siempre las aves siguen el mismo patrón, además las migraciones conectan diferentes parvadas de aves en un mismo lugar ya sea en áreas comunes de cría

o áreas no reproductivas, lo cual permite que el vIA se pueda transmitir a otras parvadas para así poder transportar el virus a otras zonas nueva (Olsen, 2006).

Por otro lado, en ecosistemas creados por el hombre se han reportado infecciones en *Psittaciformes*, *Casuariiformes*, *Struthioniformes*, *Rheiformes* y las aves domésticas de los órdenes *Galliformes* y *Anseriformes*. En estos últimos están incluidos los pollos, pavos, codornices, gallina de Guinea, faisán, gansos y patos. Las aves psitácidas se infectan probablemente después de ser capturadas y convivir en cuarentena con otras aves infectadas (Easterday, 1997).

Las aves comerciales y domésticas son planteados huéspedes aberrantes del virus ya que en ellas se presentan mutaciones del virus para poder adaptarse al nuevo hospedero (Suarez, 2000). Entre las aves domésticas se han reportado mayor cantidad de brotes del virus de IAAP en pavos y una menor cantidad en pollos. Además, estas cepas han demostrado cierta especificidad de hospedero, como ejemplo tenemos que ciertas cepas de IAAP que causan graves infecciones en pollos y pavos producen enfermedades leves en patos y gansos (CFSPH, 2010).

Los virus de IAAP H5N1 han demostrado ser capaces de colonizar tanto el tracto respiratorio como digestivo de las aves silvestres, y mediante estudios se ha logrado determinar que los patos domésticos presentan altas concentraciones del virus en las mucosas respiratorias, mas no presentaron signos clínicos aparentes por lo cual se concluyó que los patos son un hospedero importante en la transmisión de los virus H5N1 (Kaplan y Webby, 2013).

Además, se ha encontrado que las cepas del virus H5N1 son capaces de producir infección grave y en algunos casos con mortalidad en aves rapaces lo cual las convierte en especies altamente susceptibles a infecciones de estas cepas virales, sin embargo, aún no está esclarecido el papel de estos depredadores en la ecología y trasmisión del virus (Hall *et al.*, 2009).

En lo que corresponden a los mamíferos se ha visto que cepas de virus de IABP son capaces de producir enfermedad respiratoria en focas, ballenas y visones (Swayne et al, 2013). De otro lado se han reportados casos de infección severa con mortalidad por virus de IAAP H5N1 en carnívoros félicos como tigres, leopardos, leones, gatos asiáticos y leopardo de las nieves procedentes de zoológicos y centros de conservación. En estos animales se produjo una severa patología pulmonar con una propagación sistémica (Keawcharoen, 2004). Los carnívoros de la familia *Felidae* son particularmente

susceptibles a las infecciones con los virus H5N1 con reportes de infecciones en gatos domésticos a la par que se aislaba el virus en aves comerciales y humanos en Tailandia (Kaplan y Webby, 2013). A través de pruebas experimentales se determinó que los gatos pueden infectarse a través de múltiples vías y excretar el virus ya sea por secreción nasal o por las heces, las cuales pueden ser importantes para la transmisión horizontal en los felinos (Vahlenkamp, 2010).

También se ha logrado aislar el virus en perros, guarduñas, civetas africanas y burros, mas no se encontraron signos aparentes de la enfermedad en estos animales. Por otro lado, se ha demostrado experimentalmente que los zorros son susceptibles a los virus H5N1 (Reperant, 2008).

Es muy fundamental señalar que el lograr aislar una cepa de vIA de una especie no precisa que este sea un hospedero natural o un reservorio. Muchas especies de aves, especialmente las aves domésticas como los pollos y los pavos no son huéspedes naturales. Mas, en las ocasiones que un influenzavirus aviar se logre adaptar a estos hospederos, se convierten en potenciales reservorios, en la mayoría de los casos de virus de IAAP. En la época actual se conoce que los vIA de los subtipos H5 y H7 se introducen a bandadas de aves silvestres mediante cepas de IABP, los cuales, al presentarse en constante contacto y circulación con las poblaciones de aves comerciales ocasiona que los virus adquieran nuevas capacidades convirtiéndose en virus de alta patogenicidad (Suarez, 2000).

Del mismo modo el cerdo es reconocido como hospedero intermedio, amplificador y adaptador de específicos subtipos del vIA para potenciales infecciones en seres humanos (Gaydos et al., 1977). Estudios moleculares de los subtipos H1 y H3 en humanos y cerdos, señalan que los dos presentan un origen común aviar y una relación filogenética próxima entre estos (Brown, 2000).

2.1.10 Signos Clínicos

La influenza aviar presenta signos clínicos extremadamente variables y depende de muchos factores los cuales incluyen la especie afectada, la edad, el sexo, otras infecciones concurrentes, la inmunidad adquirida y factores medioambientales, lo cuales influyen en la persistencia del virus (Martin, 2006).

Una vez que las aves están infectadas, y luego de un periodo de incubación, se aprecia una baja o cese de la producción de huevos, diarrea, edema de la cabeza y cara, cianosis en cresta y barbillas si afecta aves de larga vida productiva, sinusitis y otros síntomas respiratorios; con una elevada mortalidad en el caso de los virus de IAAP. En los pavos, cepas de IABP, pueden causar pérdidas económicas considerables debido a que producen una baja en la producción de huevos y una leve mortalidad acompañada de la aparición de síntomas respiratorios y anorexia. En los patos, algunas cepas de IAAP ocasionan sinusitis, diarrea y elevada mortalidad (Berrios, 2002).

Los patotipos del vIA tienen mayor impacto en la manifestación clínica de la enfermedad (Swayne et al., 2013).

2.1.10.1 Signos originados por virus de IABP

Los virus de IABP en la mayoría de las ocasiones no producen signos clínicos aparentes, pero se demostró experimentalmente que estos virus pueden producir disminución de la producción de huevos en patos mallard (Laudert *et al.*, 1993).

En aves comerciales, en especial los pollos y pavos, los signos clínicos que se presentan son anomalías en la respiración los cuales se presentan en forma de estornudos, tos, estertores y excesivo lagrimeo, estos signos puede originar que se confundan con laringotraqueitis infecciosa u otra infección viral respiratoria (Martin, 2006). Estos signos siempre van acompañados con una pérdida de apetito y consumo de agua, fiebre, letargo, presencia de plumas erizadas, severa depresión y en algunos casos diarreas de las aves con un rango de mortalidad de hasta 15% (Capua, 2000; Martin, 2006).

En aves de postura y reproductoras los signos más característicos son la depresión de las aves acompañado con una disminución de la puesta de huevos que oscila entre 30 a 80% durante la fase aguda de la enfermedad, sin embargo, la postura se recupera parcialmente 3 semanas después del inicio de la presentación de los primeros signos. La calidad de la cáscara se ve disminuida presentándose huevos deformes, sin cáscara o huevos blancos durante el pico de la enfermedad, el rango de mortalidad varía entre 5 a 20% con un rango de morbilidad del 100% (Capua, 2000).

Emaciación y anorexia se pueden dar en algunos casos, pero es infrecuente, debido a que la influenza aviar es una enfermedad de carácter agudo, no crónico. Por último, en

las aves ratites los virus de IABP producen signos respiratorios similares a los de las gallináceas con presencias ocasionales de diarrea (Pantin y Swayne, 2009)

2.1.10.2 Signos causados por virus de IAAP

Los virus de IAAP debido a que están adaptados a aves comerciales, solo producen leve o nula presencia de signos respiratorios en aves silvestres y domésticas acuáticas, con excepción de los virus H5N1 los cuales pueden ocasionar signos neurológicos, depresión, anorexia y muerte súbita de las aves (Liu *et al.*, 2005).

En las gallináceas domésticas los signos clínicos producidos por cepas de IAAP refleja la replicación viral y el daño de múltiples órganos viscerales, cardiovasculares y del sistema nervioso. Hay que tener a consideración que no todos los signos clínicos están presentes en cada ave, así tenemos que en muchas ocasiones la enfermedad es fulminante con mortalidad en algunas aves antes de observar algún signo. La mortalidad generalmente es del 100% entre las 24 y 72 horas después de observar los primeros signos, los cuales incluyen una severa depresión, anorexia y principalmente incoordinaciones y temores antes de la muerte del animal (Capua, 2000).

El curso de la enfermedad es de carácter agudo o subagudo con una duración de 3 a 10 días, y si las aves sobreviven a los primeros 3 días de la enfermedad, se presentan los característicos signos neurológicos que incluyen temores de la cabeza y cuello, tortícolis, opistótono, nistagmo, movimientos anormales de las alas, paresia, convulsiones, incoordinación y pérdida de equilibrio. La aparición de estos signos dependerá de la especie afectada y de la cepa de IAAP involucrada, no obstante, estos signos no son patognomónicos ya que pueden ser confundidos con la enfermedad de Newcastle y otras enfermedades que afecten el encéfalo y tallo encefálico. Las infecciones hiperagudas ocurren con mayor frecuencia en pollos que en pavos, más los signos clínicos y la duración de la morbilidad son similares en ambas especies (Pantin y Swayne, 2009).

En las aves de postura y reproductoras se produce una precipitada caída de la producción de huevos que en algunos casos puede llegar al 100%. La presencia de signos respiratorios es en menor medida comparado con los virus de IABP, pero ocasionalmente puede haber estertores, estornudos y tos (Swayne *et al.*, 2013). La postura se puede llegar

a recuperar en algunas aves, pero en la mayoría de los casos las aves quedaran cluecas (Martin, 2006).

Opacidad de la córnea ha sido observado en patos domésticos infectados con cepas de IAAP H5N1 (Yamamoto et al., 2007). En los avestruces infectados con cepas de IAAP ha sido reportado depresión, disminución del apetito, diarrea hemorrágica, estornudos y dificultad para respirar. En algunos casos se ha presentado torticolis, temores de la cabeza y cuello, incoordinación y parálisis de las alas (Clavijo, 2010).

2.1.11 Lesiones

Las lesiones macroscópicas son extremadamente variables en lo que respecta a su localización y severidad, dependen generalmente de la especie afectada, la patogenicidad del virus y la presencia de patógenos secundarios (Swayne *et al.*, 2013).

2.1.11.1 Lesiones causadas por virus de IABP

En las aves de la familia de las gallináceas las lesiones más frecuentes se presentan en el tracto respiratorio, especialmente en los senos paranasales, los cuales se encuentran con una inflamación catarral, serofibrinosa o mucopurulenta, resaltando así la presencia de material caseoso en los senos paranasales. La tráquea puede presentar edema, congestión o en algunos casos hemorragia con presencia de material caseoso, lo cual puede provocar oclusión de las vías respiratorias resultando en la asfixia del ave (Capua, 2000).

Cuando bacterias patógenas secundarias están presentes (*Escherichia coli* y *Pasturella multocida* generalmente), se pueden presentar aerosaculitis, pleuroneumonía y peritonitis. En gallinas de postura y reproductoras se presenta peritonitis por yema de huevo y en algunos casos regresión folicular; los oviductos están inflamados y con material caseoso en su interior lo que origina la presencia de huevos con cáscara débil o sin ella por disminución de la deposición de calcio en la cáscara. Raramente los riñones son afectados, más si es así, se producen una inflamación renal con presencia de uratos en los uréteres y el parénquima renal. Se puede presentar enteritis catarral, especialmente en pavos, donde además se presenta en algunos casos palidez del páncreas o presencia de zonas hemorrágicas en el parénquima pancreático (Jackwood y Swayne, 2009).

Histológicamente se presenta una rinitis, sinusitis, traqueítis y bronquitis catarral, además también se ha reportado neumonía acompañado de edema y enfisema pulmonar y en algunos casos nefrosis y nefritis, lo cual se da generalmente en aves de postura, en lo que respecta a los órganos del sistema inmune se presenta una depleción linfoide, sin embargo, no ha sido demostrado la infección viral en los linfocitos. Por último, ha sido reportado lesiones de necrosis del páncreas en pavos en inoculaciones experimentales con cepa del virus de IABP H7N1 (Capua, 2000).

2.1.11.2 Lesiones causadas por virus de IAAP

Lesiones producidas en brotes naturales han sido reportadas, de la misma manera que ha sido reproducido experimentalmente en pollos. Las lesiones son de carácter necrótico y hemorrágico en la piel y las vísceras, pero si la infección es hiperaguda las lesiones no son observadas. En los pollos con una infección aguda es común encontrar edema de las carúnculas superior e inferior, zona periorbitaria, cabeza, cuello y patas acompañado de hemorragia petequiales-equimóticas. También se ha reportado necrosis y cianosis de la cresta y barbilla, esto último es producto de la necrosis isquémica (Swayne *et al.*, 2013).

Internamente se presentan hemorragia en las capas serosas y mucosas de los órganos viscerales, acompañado de focos necróticos, Así tenemos que los focos hemorrágicos se presentan en el epicardio, proventrículo, molleja, pulmón, músculo de la pechuga, placas de Peyer y tonsilas cecales, mientras que los focos necróticos se encuentran en el corazón y con menos presencia en el hígado, bazo y riñón, en estos usualmente acompañados de uratos. En algunas ocasiones se encuentra edema en el cerebro y zonas necróticas-hemorrágicas en el páncreas (Jackwood y Swayne, 2009).

Histológicamente se presentan necrosis e inflamación de los órganos viscerales, siendo los órganos más afectados el cerebro, páncreas, pulmón, corazón, bursa, bazo, timo, médula ósea, glándulas adrenales y la piel incluyendo los folículos de las plumas. Si la infección es hiperaguda normalmente no se aprecian lesiones microscópicas, pero en algunos casos se pueden observar focos necróticos y lesiones inflamatorias en los miocitos y endotelio vascular. En aves de larga vida como los pavos y gallinas reproductoras o de postura las lesiones inflamatorias son más prominentes que las necróticas (Jackwood y Swayne, 2009).

2.1.12 Patogénesis

En aves comerciales el proceso inicia con la ingestión o inhalación de virus de influenza tipo A, ya sea IABP o IAAP. La virulencia de la cepa está determinada por el subtipo de HA/NA y las proteínas internas, determinándose a través de estudios que las proteínas NP, NS1, NA, PA, PB1 y PB2 son importantes en la virulencia del virus de IA (Hulse *et al.*, 2004).

Dentro del organismo, debido a las enzimas similares a la tripsina presente en las células epiteliales respiratorias e intestinales se escinde la hemaglutinina, comenzando múltiples ciclos de replicación viral en el tracto respiratorio e intestinal. En aves gallináceas el principal sitio de la replicación primera es la cavidad nasal (Swayne *et al.*, 2013).

Posterior a la replicación inicial en el epitelio respiratorio lo cual se da en las primeras 16 horas después de la inhalación del virus, los viriones invaden la submucosa, entrando en los capilares sanguíneos, donde se replicarán en las células endoteliales para luego extenderse a través del sistema vascular a infectar y replicarse en las células de los órganos internos, cerebro y piel en menos de 24 horas y en 48 horas se presentan las lesiones más severas. En algunos casos el virus puede hacer una infección sistémica antes de replicarse en las células del endotelio vascular (Swayne *et al.*, 2013).

El virus esta presenta en el plasma sanguíneo, así como en los eritrocitos y las células de la estirpe linfóide y mieloide, con respecto a estas últimas, los macrófagos cumplen un rol importante en la diseminación sistémica del virus junto con las enzimas celulares similares a la furina, presentes de forma ubicua en las células epiteliales de los órganos viscerales (Swayne *et al.*, 2013).

El mecanismo de daño de los virus de IAAP está dado por la muerte celular primaria seguido de una apoptosis o necrosis de la célula, el cual se da en las neuronas, células arcinarias pancreáticas, miocitos del corazón, células corticales adrenales, células tubulares renales y células del epitelio pulmonar. La apoptosis ha sido demostrada mediante estudios experimentales involucrando la expresión de citoquinas, en especial el interferón- β y el factor crecimiento transformante β (Jackwood y Swayne, 2009).

La alteración de la permeabilidad vascular con su posterior incremento es el responsable del edema y la hemorragia en los órganos afectados y la falla multiorgánica es asociada con el daño del endotelio vascular acompañado de la presencia de

microtrombos, el cual en algunos casos puede progresar a una coagulopatía con trombocitopenia marcada llevando a una alteración de la coagulación sanguínea (Jackwood y Swayne, 2009).

En resumen, el daño causado por los vIA es el resultado de cuatro procesos:

- Daño directo debido a la replicación viral en las células.
- Daño indirecto a través de mediadores celulares (citoquinas).
- Isquemia debido a la trombosis vascular
- Colapso cardiovascular a causa de la coagulopatía o coagulación intravascular diseminada (Swayne et al., 2013).

2.1.13 Inmunidad

Ante una infección natural o a través de una inmunización por vacunas la inmunidad en las aves se da por una respuesta humoral a nivel de la mucosa y a nivel sistémico (Suarez y Schultz, 2000). Esta incluye una respuesta sistémica de inmunoglobulina M 5 días post infección, seguidos de una respuesta por inmunoglobulina G; la cual está influenciada por la edad del ave, infecciones concurrentes por virus inmunodepresores como Marek o Gumboro y la antigenicidad de la cepa del virus involucrado. Así tenemos que los pollos presentan una mayor respuesta humoral, seguido de los faisanes, pavos, codornices y patos (Swayne *et al.*, 2013).

Los anticuerpos contra las hemaglutininas y neuraminidasas son neutralizantes y protectivos, sin embargo, los anticuerpos contra HA generan mayor protección que los anticuerpos contra NA (Sylte, 2007). El grado de protección va a depender del grado de antigenicidad o la secuencia proteica similar entre la HA de la vacuna y del virus de campo presente (Swayne *et al.*, 2013).

Los anticuerpos instigados por la proteína M2 disminuyen la penetración del virus, aunque no son neutralizantes, lo cual origina que confiera una protección incompleta (Noda, 2006).

La duración de la protección vacunal no está muy esclarecida, pero en gallinas se ha demostrado experimentalmente que una inmunización simple es capaz de proteger al menos durante 30 semanas. Por regla general los pavos y pollos de carne requieren 2 vacunaciones para una adecuada protección a diferencia de las aves reproductoras y de postura comercial que requieren mínimo tres vacunaciones (Swayne *et al.*, 2011).

En lo que respecta a la inmunidad pasiva se ha demostrado que los anticuerpos maternos confieren protección durante los primeros 10 a 21 días, lo cual está influenciado por la concentración de anticuerpos en la progenie, además estos anticuerpos interfieren con la inmunidad activa ya sea usando vacunas vivas o atenuadas (De Vriese *et al.*, 2010).

2.1.14 Diagnóstico

Para poder detectar el virus de influenza tipo A como causa de enfermedades en granjas avícolas y en poblaciones de aves silvestres se requiere de un diagnóstico exhaustivo, para así poder diferenciarlo de otras enfermedades, especialmente las causadas por el paramixovirus aviar tipo 1 (OIE, 2021).

El diagnóstico definitivo del vIA se establece mediante la detección directa de proteínas y genes del virus en tejidos, hisopados, cultivos celulares o con el aislamiento e identificación del virus; de otra manera también a través de la detección de anticuerpos frente el virus se puede llegar a un diagnóstico presuntivo. Cabe señalar que la mortalidad, los signos clínicos observados en las granjas y las lesiones observadas durante la necropsia nos pueden orientar en el diagnóstico y ayudar a decidir qué granjas entraran en cuarentena con la erradicación total del lote (Swayne *et al.*, 2013).

2.1.14.1 Toma de Muestra y Almacenamiento

Los virus de influenza tipo A son generalmente aislados a partir de hisopados traqueales, orofaríngeos y cloacales de aves muertas o aves vivas moribundas, esto se debe a que ya sean virus de IAAP o IABP, se replican en el tracto respiratorio e intestinal. En el caso de aves muertas además de los hisopados se deben tomar muestras de órganos donde el virus se replica tales como tráquea, pulmones, saco aéreo, intestino, bazo, tonsilas cecales, riñón, hígado, corazón y cerebro; este último es importante ya que si se logra detectar el virus en el encéfalo nos indica la presencia de un virus de IAAP o en defecto una cepa neurotrópica de la enfermedad de Newcastle (Swayne *et al.*, 2013; OIE, 2021).

Los hisopados orofaríngeos y traqueales son la mejor muestra para aves gallináceas y los hisopados cloacales lo son para las aves acuáticas. Los hisopados

orofaríngeos y traqueales presentan similar sensibilidad para detectar el vIA, sin embargo, los hisopados traqueales son más invasivos y pueden dañar los tejidos (Spackman y Suarez, 2016).

En lo que respecta a los hisopados cloacales, estos deben estar cubiertos visiblemente de contenido fecal. En el caso de aves pequeñas está recomendado el uso de hisopos de pediatría humana y las muestras recolectadas de hisopos traqueales, orofaríngeos y cloacales se pueden agrupar entre ellos, es decir hisopos cloacales con hisopos cloacales. Con respecto al tipo de hisopo que debe usarse se ha demostrado que los hisopos flocados generan mejores resultados en recuperar mayor cantidad del virus que los hisopos de espuma (Spackman *et al.*, 2013).

Una vez tomadas las muestras de hisopados se deben colocarse en una solución salina con fosfatos (PBS) isotónica a pH 7.0-7.4 con antibióticos o algún otro compuesto que contenga prótidos y antibióticos, así tenemos que es posible también utilizar caldo cerebro corazón o medio de transporte universal (UTM), este último al contener antibióticos se ha convertido en el medio ideal para tomar muestras. Los antibióticos usados por regla general son penicilina (2000 unidades/ml), gentamicina (50ug/ml), estreptomycinina (2 unidades/ml) y micostatina (1000 unidades/ml) en el caso de hisopados traqueales u orofaríngeos, si se tratara de hisopados cloacales las concentraciones deben ser 5 veces mayor (OIE, 2021).

Posteriormente las muestras serán transportadas a 4°C a través de un recipiente o caja con gel packs. En esta temperatura se puede conservar por máximo 4 días y si se requiere una conservación más prolongada se deberán guardar a -70°C, y cuando se transporten se puede utilizar en hielo seco (-50°C). También se pueden conservar bajo congelación estándar (-20°C) (Spackman y Suarez, 2016).

2.1.14.2 Aislamiento del virus

El aislamiento del vIA se realiza típicamente en huevos embrionados libres de patógenos específicos (SPF) los cuales son inoculados mediante la vía de saco corioalantoideo en huevos de 9 a 11 días de edad con 0.2 a 0.3 ml de muestra. En algunos casos se usa la vía del saco vitelino cuando falla la vía anterior (Swayne *et al.*, 2013).

Se inoculan de 3 a 5 huevos por muestra los cuales son incubados a 35-37°C por 3 a 5 días. Generalmente la muerte de los embriones en las primeras 24 horas corresponde

a contaminación bacteriana o traumatismo durante la inoculación, más algunas cepas de IAAP pueden causar mortalidad en este tiempo (Spackman y Suarez, 2016).

Pasado el tiempo correspondiente se colectan los fluidos alantoideos de los huevos con embriones muertos y los huevos cuyos embriones han sobrevivido al periodo de incubación para realizar la prueba de hemaglutinación (HA). Si resulta positivo se demuestra la presencia del virus de Influenza o de un Paramixovirus tipo 1 para lo cual se necesitará realizar una prueba confirmatoria: molecular, inhibición de la hemaglutinación o de captura de antígeno específico (Spackman y Suarez, 2016).

Para los fluidos alantoideos que den negativo a la hemaglutinación, puede haber la posibilidad de que tenga pocas cantidades de virus en la muestra; por ello es necesario realizar un pasaje más de las muestras, pero para ello se deben tener en cuenta todas las medidas asépticas posibles para no incrementar el riesgo de reacción cruzada en el laboratorio (Swayne *et al.*, 2013).

2.1.14.3 Identificación del virus

Para la identificación del virus de influenza tipo A se usan los fluidos alantoideos positivos a la hemaglutinación, para ella la prueba más comúnmente usada es la Inhibición de la Hemaglutinación (HI). En esta prueba se usa anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle para determinar si el virus de causante de esta enfermedad está presente. Si el anticuerpo logra inhibir la hemaglutinación el virus de Newcastle está presente, pero esta inhibición no excluye la posibilidad de que el fluido pueda contener los dos virus. Si el resultado es negativo el virus presente en la muestra es un vIA (Swayne *et al.*, 2013).

La matriz proteínica o nucleoproteína son aislados a partir de la hemólisis radial simple o inmunoensayo de captura de antígeno. En esta prueba toman importancia para la identificación de estos antígenos en ELISA los anticuerpos monoclonales debido a que son capaces de reaccionar con las nucleoproteínas o las proteínas de la matriz (Swayne *et al.*, 2013).

Es posible confirmar la presencia del vIA mediante prueba de inmunodifusión de agar gel (AGID), el cual sirve para la detección de antígenos de la matriz o nucleoproteína, los cuales están presentes en todos los influenzavirus tipo A. Otra alternativa, es el uso de las pruebas moleculares entre las cuales destacan la prueba de

Reacción en Cadena por la Polimerasa con Transcriptasa Inversa (RTPCR) o RT-PCR en tiempo real usando cebadores conservados específicos de la nucleoproteína o específicos de la matriz. La presencia de los subtipos H5 o H7, los cuales son generalmente virus de IAAP, también puede determinarse con el uso de cebadores específicos de los subtipos H5 o H7 (OIE ,2021).

La subtipificación antigénica se logra mediante el uso de antisueros monoespecíficos preparados contra los subtipos de las glicoproteínas de la superficie (HA y NA), que se suele utilizar en pruebas de inhibición de la neuraminidasa (IN) y de HI, o bien utilizando anticuerpos policlonales creados contra una diversidad de virus influenza intactos y utilizados en pruebas de HI y de NI (OIE, 2021).

Estos métodos poseen dos grande inconvenientes: en primer lugar cabe la posibilidad de que se den reacciones falsos negativos si los antígenos tienen una mala compatibilidad, a pesar de pertenecer al mismo subtipo o falsos positivos, que se puede dar cuando existe una reacción cruzada o una inhibición estérica; está ultima es cuando el virus desconocido y el virus de referencia comparten el mismo subtipo de neuraminidasa, lo que origina que los anticuerpos contra el subtipo NA interfiera con la hemaglutinación. La otra gran desventaja es que estos métodos requieren una larga y buena caracterización de los anticuerpos monoespecíficos para ser capaces de reconocer a todos los subtipos. Debido a esto, estos exámenes sólo son realizados en laboratorios de referencia (Spackman y Suarez, 2016).

2.1.14.4 Pruebas Serológicas

Muchas técnicas específicas del virus de influenza tipo A (ELISA y AGID) o de los subtipos (HI y NI) son usados en la detección de anticuerpos contra el vIA en diferentes especies de aves. Estos diagnósticos se pueden realizar en crianzas pequeñas y se requieren de un mínimo de 20 a 30 animales para ser muestreados por cada granja para lograr la adecuada sensibilidad de toda la crianza (Spackman y Suarez, 2016).

2.1.14.4.1 ELISA

Las pruebas de ELISA permiten la detección de anticuerpos frente a la nucleoproteína, los cuales son compartidos entre todo los vIA. De este modo se han

creado y validado posteriormente distintos kits de ELISA, ya sea de tipo indirecto o de competición/bloqueo, utilizándose actualmente en la detección de anticuerpos contra los influenzavirus tipo debido a la mayor sensibilidad que poseen con respecto a la AGID (OIE, 2021).

Los kits de ELISA indirectos son comúnmente usados para pollos y pavos, mientras que los competitivos pueden ser usados para todas las especies, sin embargo, no se sabe la sensibilidad y especificidad de esta técnica frente a algunas especies de aves. Los ELISAS son utilizados para los monitoreos serológicos, y si los resultados salen positivos se deben confirmar con la prueba AGID o con la HI, esta última se utiliza para determinar el subtipo de hemaglutinina (Swayne *et al.*, 2013).

Antes de ser utilizados los kits de ELISA serán validados de acuerdo a la especie concreta de interés y el objetivo de su uso. Los kits de ELISA tienen un costo moderado y su utilidad radica en ser usados en programas de vigilancia serológica gran escala; dando mejores resultados que la HI. Se han diseñado kits de ELISA para determinar anticuerpos contra subtipos específicos de HA como el H5, H7, H9 y ciertos subtipos N, es decir, N1, pero en general tienen menor sensibilidad que el ELISA para el vIA (OIE, 2021).

2.1.14.4.2 INMUNODIFUSIÓN EN AGAR GEL

La prueba de inmunodifusión en agar gel sirve para detectar el antígeno del virus de influenza tipo A, así como los anticuerpos contra el mismo. Se utiliza principalmente para confirmar resultados de ELISA positivo según las regulaciones internacionales. Las ventajas de esta prueba es su bajo costo, trabaja bien con muestras de suero de pollos y pavos y es específico para el vIA, así que es capaz de detectar anticuerpos contra todas las cepas. Sin embargo, no puede ser aplicado para todas las especies, en especial contra los anticuerpos de aves acuáticas y la sensibilidad de la prueba va disminuyendo a medida que pasan los días de la infección a comparación del ELISA (Spackman y Suarez, 2016).

Esta prueba al igual que el ELISA detecta anticuerpos contra la nucleoproteína y matriz proteica de los vIA. Por ende las preparaciones concentradas de virus usados deben contener antígenos tanto de la matriz como de la nucleoproteína. Normalmente, se han utilizado en estas pruebas soluciones enriquecidas en nucleoproteína cuyo origen es a partir de las membranas corioalantoideas de huevos SPF infectados a los 10 días de edad,

los cuales luego fueron homogeneizados, congelados y descongelados tres veces, y centrifugado a 1.000 revoluciones por minuto para ser finalmente inactivados con formalina al 0,1% o beta-propiolactona al 1% y de la misma manera que la prueba de ELISA si el resultado sale positivo se debe realizar una prueba de HI para identificar el subtipo involucrado (OIE, 2021).

Hay que tener en cuentas a la hora de realizar esta técnica que existe mucha variación en la respuesta inmune entre las distintas especies de aves, como ejemplo tenemos que los anticuerpos contra la nucleoproteína son generalmente altos en pavos y faisanes, mas no así en patos, donde son indetectables (Slemons y Easterday, 1972).

2.1.14.5 Pruebas moleculares

Todos los diagnósticos moleculares comparten un mismo objetivo, lograr amplificar altos niveles de ácidos nucleicos para así, ser identificados en una muestra. Los diagnósticos moleculares para el virus de la Influenza aviar se ha incrementado de manera exponencial en estos últimos años (Perera *et al.*, 2011).

La reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa (RT-PCR) y el rRT-PCR han sido desarrollado y usados en los laboratorios para estudios experimentales y para detectar casos clínicos de campo causados por el vIA (Swayne et al., 2013). El rRT-PCR tiene una duración de al menos 3 horas y su sensibilidad y especificidad es similar con los métodos de aislamiento convencionales, de esta manera al realizar estos exámenes aceleramos el diagnóstico de la enfermedad y del monitoreo de campo. Tiene la ventaja de identificar el virus de influenza tipo A de diversas especies, ya sean aves o mamíferos (Fouchier *et al.*, 2000).

La RT-PCR convencional para la identificación del vIA, es utilizada por los laboratorios desde la década de 1990. La aplicación de esta técnica permite que con el producto de PCR purificado puede ser empleado en la secuenciación de ácidos nucleicos y con ello poder determinar la patogenicidad de la cepa aislada (Perera *et al.*, 2011).

Si las muestras son positivas, se debe realizar una prueba molecular rRT-PCR específica para los subtipos H5 y H7. En las gallináceas se utilizan como muestra hisopados orofaríngeos y traqueales a diferencia de las aves silvestres donde se utiliza generalmente hisopados cloacales o muestras de heces frescas debido a que algunos virus

de Influenza A son más enterotrópicos y un muestreo a partir de muestras del tracto respiratorio puede tener baja sensibilidad (Swayne *et al.*, 2013).

Actualmente están descritos y validados varios ensayos de rRT-PCR que amplifican tanto regiones del gen de la matriz (M) como de la región HA2 del gen de la Hemaglutinina. El gen M es conservado en todos los subtipos de la HA de todos los virus de influenza aviar, mientras que la región HA2 es relativamente conservada dentro de los genes de la HA, lo cual hace que sea la de mayor interés en el diagnóstico de los subtipos de IAAP H5 y H7 (Lee y Suarez, 2004).

Se debe tener en cuenta el propósito para el que se usa las pruebas moleculares debido a que existe una pobre correlación entre un resultado molecular positivo y la presencia del virus viable, como ejemplo tenemos que si un virus ha sido inactivado no puede ser detectado en el aislamiento viral convencional, más va a resultar positivo en la prueba molecular. Por ello, cuando se quiere demostrar si un ambiente está libre del vIA, el uso de aislamiento viral en huevos embrionados es más recomendado (Spackman y Suarez, 2016).

2.1.14.6 Diagnóstico Diferencial

Debido al amplio espectro de signos y lesiones que causa la influenza aviar en diversas especies de aves, el diagnóstico definitivo se logra a partir de técnicas serológicas y virológicas. Para los virus de IAAP, otras causas de alta mortalidad que deben ser excluidas son: cepas velogénicas del virus de la enfermedad de Newcastle. Cólera aviar, estrés por calor y algunos procesos tóxicos agudos. Para los virus de IABP otras causas de enfermedad respiratoria en pollos y disminución de la producción de huevos en aves de postura que deben ser descartadas son: cepas lentogénicas del virus de Newcastle, laringotraqueitis infecciosa, bronquitis infecciosa, micoplasmosis aviar y síndrome de cabeza hinchada (Easterday, 1997).

2.1.15 Prevención y Control

Existen tres diferentes objetivos en el control de la influenza aviar: Prevención, manejo y erradicación. Para lograr esto se debe poseer una estrategia basada en 5 componentes específicos que se correlacionan: educación del personal, bioseguridad,

diagnóstico y monitoreo, eliminación de aves afectadas y la disminución de la susceptibilidad del hospedero (Swayne *et al.*, 2013).

De todos estos componentes las medidas de bioseguridad son muy importantes ya que evitan la introducción del virus, su infección y su propagación. La principal causa potencial de posibles infecciones para las aves domésticas son las aves silvestres (Linzitto, 2005).

Las medidas de bioseguridad y buenas prácticas de producción son disposiciones y acciones zoonositarias que están orientadas a minimizar el riesgo de introducción, transmisión y posterior diseminación del virus de Influenza aviar, así como garantizar la trazabilidad de todas las acciones realizadas en una granja avícola (SENASICA, 2011).

En brotes por virus de IABP, los esfuerzos se orientan a controlar la infección en su forma original, para así evitar que el virus mute a sus formas más patógenas. De este modo, la cuarentena de las galpones y granjas afectadas es de vital importancia para evitar la diseminación del virus. En los países en los cuales la IA nunca ha sido detectada, la aparición de formas no patógenas debe ser evaluada y monitoreada, debido a que es una fuente potencial de un virus más patógeno. En cambio, si hay un brote originado por un virus de IAAP, se debe realizar la eliminación, por medio del sacrificio de las aves, la despoblación, desinfección y limpieza de las instalaciones afectadas y por último el control epidemiológico realizado por personal calificado de la zona involucrada. En zonas endémicas el uso de vacunas monovalentes y polivalentes pueden proteger parcialmente contra la mortalidad, morbilidad y la disminución de producción de huevos, además de reducir la diseminación del virus, sin embargo, no logran eliminar el virus de las aves (Linzitto, 2005).

Otro aspecto que no se puede dejar de lado es la educación de todo el personal acerca de cómo el virus se introduce en las instalaciones, como se diseminan y qué medidas se pueden tomar para evitarlo. Así se puede evitar el movimiento del virus a través de fómites y aerosoles, lo cual impedirá que el virus se disemine entre granjas comerciales (Swayne *et al.*, 2013).

En crianzas de traspatio debido a que no se pueden implementar las medidas de bioseguridad, se necesitaría reducir la susceptibilidad del hospedero a la infección, lo cual se consigue mediante la aplicación de vacunas, especialmente en países endémicos con cepas de IAAP (Iqbal, 2009).

Un rápido y preciso diagnóstico para el vIA es fundamental para lograr un control rápido eficaz de la enfermedad. Se ha demostrado que la rapidez con la que la infección por el vIA es controlada es directamente proporcional con cuán rápido son detectados los primeros casos en la parvada, además de las medidas de bioseguridad existentes y que rápido se realiza la erradicación de las aves. En este aspecto los monitoreos serológicos son usados para poder certificar si una zona está libre de la infección con el vIA durante un brote para así poder determinar la extensión de la zona infectada para su cuarentena posterior (Swayne *et al.*, 2013).

Posterior a la identificación de los lotes infectados con cepas de IAAP, se debe realizar la eliminación de las aves, huevos y heces, paso esencial para impedir la transmisión del virus. Esto se puede llevar a cabo mediante distintos métodos como compostaje, incineración, transformación en subproductos o entierros en fosos sépticos. Con respecto a infecciones por IABP, solo se ordena vender a las aves después que se han recuperado de la infección. Esto es debido a que la mayoría de los virus de influenza tienen una excreción viral de 2 semanas en promedio y usualmente 4 semanas después de la infección el virus no es detectado. En los últimos años se ha usado el método “water-based foam” para la eliminación de las aves ya que con este se minimiza la exposición del virus hacia los humanos durante la erradicación de las aves (Benson *et al.*, 2009).

La disminución de la susceptibilidad del hospedero se logra mediante la vacunación de las aves, las cuales se han desarrollado principalmente para pollos y pavos cuya efectividad radica en prevenir los signos clínicos y la mortalidad. Se han desarrollado vacunas inactivadas y vectorizadas usando cepas de IABP las cuales se utilizan en los países endémicos con Influenza Aviar (Swayne *et al.*, 2013).

III MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de Estudio

El presente estudio se realizó durante los meses de agosto y setiembre del año 2020 con muestras de sueros de gallinas reproductoras obtenidas a partir de la seroteca del laboratorio de Patología Aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

3.2 Materiales

3.2.1 Muestras de Suero

Se seleccionaron 387 muestras de sueros de aves reproductoras del departamento de Lima sin distinción de edad o sexo.

Las muestras fueron obtenidas de la seroteca del Laboratorio de Patología Aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM.

La procedencia de las muestras, así como la edad de las aves muestreadas se describen en el cuadro 1.

Cuadro 1: Procedencia de las muestras de sueros de aves reproductoras del departamento de Lima utilizados en el estudio

Lugar de Origen	Identificación	Fecha de Toma de Muestra	Edad Aves
Barranca	Reproductora 1	20-06-20	20 semanas
Barranca	Reproductora 2	20-06-20	40 semanas
Barranca	Reproductora 3	20-06-20	60 semanas
Barranca	Reproductora 4	12-02-20	15 semanas
Barranca	Reproductora 5	12-02-20	26 semanas
Barranca	Reproductora 6	12-02-20	40 semanas
Barranca	Reproductora7	12-02-20	55 semanas
Barranca	Reproductora 8	20-05-20	10 semanas
Barranca	Reproductora 9	20-05-20	36 semanas
Barranca	Reproductora 10	20-05-20	56 semanas
Mala	Reproductora 11	10-03-20	15 semanas
Mala	Reproductora 12	10-03-20	30 semanas
Mala	Reproductora 13	10-03-20	45 semanas
Mala	Reproductora 14	10-03-20	60 semanas
Asia	Reproductora 15	20-04-20	08 semanas
Asia	Reproductora 16	20-04-20	20 semanas
Asia	Reproductora 17	20-04-20	40 semanas
Asia	Reproductora 18	20-04-20	56 semanas
Cañete	Reproductora 19	10-01-20	15 semanas
Cañete	Reproductora 20	10-01-20	25 semanas
Cañete	Reproductora 21	10-01-20	42 semanas
Cañete	Reproductora 22	10-01-20	50 semanas
Mala	Reproductora 23	15-03-20	15 semanas

3.2.2 Materiales y Equipos

Para el procesamiento de las muestras se contó con el equipo e instrumental necesario para realizar la prueba de ELISA competitivo, lo cual consto de:

1. Kit de ELISA competitivo para detección de anticuerpos frente al virus de Influenza A de Laboratorios IDEXX.
2. Lector de ELISA modelo ELx800 de Biotek.
3. Computadora.
4. Software de diagnóstico XChekkPlus de Laboratorios IDEXX.
5. Micropipetas multicanal regulables con rango de 10-200 ul.
6. Puntas para las Micropipetas.
7. Agua destilada
8. Cronómetro.

9. Guantes de látex.

3.3 Métodos y procedimientos

3.3.1 Determinación del tamaño de muestra

Se realizó en base a la fórmula de proporciones para poblaciones infinitas (Daniel, 1996).

$$n = \frac{z^2 pq}{d^2}$$

- Donde:
- n = número de muestras
- $z = 1.96$ (al 95% de confianza)
- p = prevalencia- 0,5; debido a que no hay estudios anteriores en el lugar
- $q=1-p$
- $d = p/10$ nivel de confianza, precisión o error admitido
- Reemplazando: $n= 385$

Por lo tanto, se determinó un mínimo de 385 muestras a ser utilizadas para el desarrollo del presente estudio. A partir de la seroteca del Laboratorio de Patología Aviar FMV-UNMSM, se seleccionaron 387 muestras de suero provenientes de aves reproductoras del departamento de Lima.

3.3.2 Procesamiento de las muestras

3.3.2.1 Prueba de ELISA competitivo

Todas las muestras de suero fueron procesadas mediante la prueba de ELISA competitivo del laboratorio IDEXX(EE.UU.) para la detección de anticuerpos frente al virus de Influenza A.

Esta prueba está diseñada para medir el nivel de anticuerpos específicos frente al virus de la Influenza A en muestras de suero. El ensayo fue realizado de acuerdo a las instrucciones del fabricante (Anexo 1). Se llevo a cabo en placas de 96 pocillos los cuales se encuentran tapizados con el antígeno viral del virus de influenza tipo A. Se adicionó un volumen de cada muestra diluida en cada uno de los pocillos. Luego de la incubación de una hora, si la muestra es positiva el anticuerpo específico frente al vIA forma un complejo con el antígeno. Posteriormente, tras eliminar el material no unido se procedió a añadir un conjugado de carácter enzimático de anticuerpos monoclonales anti-Influenza A en los pocillos. De no haber presencia de anticuerpos frente al vIA en las muestras analizadas, el conjugado reacciona libremente con el antígeno del virus presente en la placa. Por otro lado, de haber anticuerpos frente al vIA presentes en la muestra, el conjugado anti-Influenza A no se puede unir al antígeno, el cual al no unirse será eliminado en el proceso de lavado y finalmente se añadió un sustrato enzimático y la solución de stop. El color que apareció en el resultado final es inversamente proporcional a la cantidad de anticuerpos anti-Influenza A, en la muestra analizada.

La lectura de se realizó en espectrofotómetro, a absorbancia a 650 nm, A (650). Los resultados fueron calculados dividiendo la A (650) de la muestra por la media A (650) del control negativo, lo cual resulta en el valor M/N (relación muestra-control negativo). La proporción de anticuerpos en inversamente proporcional al A (650) y por ende al valor M/N.

Una muestra se considera negativa al poseer un valor M/N mayor a 0.5.

La presencia de anticuerpos frente al influenzavirus tipo A indica infección del ave o exposición previa al virus de Influenza A.

La preparación de las muestras y los reactivos utilizados, así como la interpretación de resultados se describen en el anexo 1.

3.3.3. Prueba estadística

Con los datos obtenidos se determinó la presencia o ausencia de anticuerpos frente al virus de la influenza tipo A mediante siguiente fórmula (Ahlbom y Norel, 1990)

$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{Numero de muestras positivas} \times 100}{\text{Numero de muestras totales}}$$

Con su respectivo intervalo de confianza

$$\text{IC} = p \pm 1.96 \sqrt{[p(1-p)/n]}$$

IV RESULTADOS

Como resultados del estudio obtuvimos que todas las muestras analizadas fueron negativas a la presencia de anticuerpos anti-vIA mediante la prueba de ELISA competitivo frente al virus de la influenza A.

Los valores obtenidos en los análisis se detallan en el Cuadro 2, donde se pueden observar los valores en relación a la media geométrica (PGT) y media aritmética (PAT) de los valores asignados a los títulos de anticuerpos dentro de cada grupo o plantel analizado.

Cuadro 2: Resultados obtenidos mediante la prueba de ELISA competitivo en aves reproductoras del departamento de Lima.

Reproductoras		Número de Muestras	Resultados		
			P.G.T	P.A.T	C.V%
Granja 1	Lote 1	20	0.681	0.686	12.2
	Lote 2	20	0.654	0.656	7.4
	Lote 3	16	0.724	0.73	12.2
	lote 4	18	0.721	0.735	19
	Lote 5	18	0.726	0.74	23.2
Granja 2	Lote 6	16	1.069	1.076	11.4
	Lote 7	16	0.968	0.971	7.8
	Lote 8	16	0.903	0.909	12.1
	Lote 9	16	0.882	0.887	17.8
	Lote 10	16	0.688	0.708	21.9
Granja 3	Lote 11	15	0.748	0.760	17.5
	Lote 12	16	0.750	0.755	11.9
	Lote 13	16	0.694	0.702	15.1
	Lote 14	16	0.797	0.821	26.1

Granja 4	Lote 15	16	0.692	0.698	13.8
	Lote 16	16	0.692	0.696	11.2
	Lote 17	16	0.694	0.715	28.5
	Lote 18	16	1.084	1.089	9.7
Granja 5	Lote 19	20	0.687	0.704	21.6
	Lote 20	16	1.071	1.076	9.7
	Lote 21	16	0.913	0.917	9.5
	Lote 22	16	0.917	0.923	11.6
Granja 6	Lote 23	20	0.874	0.878	22.5

Como muestra el cuadro 2, todas las muestras en promedio aritméticos y geométricos totales evidenciaron valores mayores a 0.5 lo cual indica que fueron negativos en la detección de anticuerpos frente al virus de la Influenza A.

V. DISCUSIÓN

El Perú es un país libre de Influenza Aviar desde el 2005 (SENASA, 2005) y anualmente el SENASA realiza un monitoreo serológico en las aves de crianza familiar, tecnificada y de combate a lo largo del territorio peruano como parte de la vigilancia sanitaria contra la enfermedad (Gutiérrez, 2020).

Sin embargo, eso no significa que las aves domésticas no se encuentren en riesgo de infectarse con el virus de Influenza A debido a que en estudios anteriores se ha detectado la presencia del virus de IABP en aves silvestres, principalmente en el departamento de Lima. Así tenemos que entre 2006 y 2007 se aislaron 9 subtipos de IABP en las zonas de la costa del departamento de Lima (Gherzi, 2009). En un estudio del año 2008, un virus del subtipo H7N3 fue aislado a partir de las muestras de contenido fecal de patos colorados (*Anascyanoptera sp.*) en los Pantanos de Villa (Gherzi, 2011). Por último, en el año 2009 se aislaron siete cepas del subtipo H12N5 en aves silvestres acuáticas de los humedales de Puerto Viejo, Huacho, Lima (Segovia, 2010).

En la epidemiología de la enfermedad las aves silvestres migratorias son las que juegan el papel más importante a la hora de la transmisión primaria de la enfermedad, es decir la transmisión desde territorios con presencia del virus a zonas libres de la enfermedad, funcionando como reservorios naturales (Olsen, 2006); más en la diseminación secundaria son las aves de traspatio y comerciales las que tienen un rol importante, debido a que presentan un contacto muy cercano con las aves silvestres.

A pesar de que las granjas de las aves reproductoras poseen uno de los mayores niveles de bioseguridad, siempre está el riesgo de contacto con aves silvestres. Por ello es necesario realizar una vigilancia epidemiológica constante para saber el estado sanitario de las aves contra esta enfermedad.

El presente estudio se realizó con la finalidad de evidenciar la presencia o ausencia de anticuerpos frente al vIA en aves reproductoras de la especie *Gallus gallus domesticus* mediante la prueba de ELISA competitivo a partir de 387 muestras de sueros colectado en el departamento de Lima, esto es debido a que la región nombrada es una de las que presentan la mayor cantidad de aves reproductoras en nuestro país según los datos publicados por el MINAGRI. Las muestras fueron tomadas en 06 granjas y proporcionadas por una empresa avícola por lo cual el estudio no permitió que se realice una selección aleatoria de las muestras para el diseño experimental, el cual se realizó sin distinción de sexo o edad. Como resultado del estudio se obtuvieron que todas las muestras de suero son negativas a la presencia de anticuerpos frente a Influenza A.

Estos resultados coinciden con las informaciones brindadas por el SENASA, el cual realiza monitoreos serológicos anualmente para la vigilancia sanitaria contra la Influenza Aviar.

El ELISA competitivo detecta anticuerpos contra la proteína NP del virus de Influenza A, esta prueba ha sido usada durante mucho tiempo para realizar monitoreos serológicos en aves comerciales debido a la rapidez con la que salen los resultados y a su sensibilidad, la cual se ha demostrado que es más alta que la AGID en la detección de anticuerpos específicos contra el vIA. El empleo de dicho kit se consideró el indicado tomando en cuenta que la OIE recomienda la detección de la presencia de anticuerpos ante NP para efectuar la vigilancia de la infección de IA en aves no vacunadas (OIE, 2021).

Los resultados obtenidos en el presente estudio concluyen que los anticuerpos frente al virus de Influenza A no están presentes en las muestras de suero de las aves reproductoras evaluadas del departamento de Lima. Sin embargo, esto no nos indica al 100% que las muestras no presenten o hayan presentado anticuerpos frente al virus de Influenza A ya que a pesar de la alta sensibilidad que posee el ELISA competitivo, no llega al 100%.

Se han realizados otros estudios similares, en los cuales se detectó que las muestras de sueros de los pollos de carne obtenidas entre los años de 1998 y 1999 del distrito de Chancay presentaron una prevalencia de 0% para Influenza aviar a través de una prueba serológica (Monasi, 1999), de la misma manera que los sueros de pavos de crianza extensiva de las provincias de Lima, Huaral, Huacho, Canta y Barranca obtenidos entre los años 2008 y 2009 (Sáenz, 2010). Si bien las muestras que se utilizaron provienen de diferentes especies, en conjunto estos resultados concluyen que el virus de Influenza A no ha llegado a diseminarse en las aves comerciales y de traspatio de nuestro país. Esto es debido probablemente al cumplimiento de las normas sanitarias, así como la vigilancia epidemiológica que es llevado a cabo por el SENASA y las grandes empresas avícolas comerciales. Estos resultados contribuyen para generar información valiosa utilizada en la vigilancia epidemiológica de la Influenza aviar en el Perú. La OIE indica que es esencial realizar el monitoreo de los virus de influenza tipo A para lograr su detección a través de la vigilancia epidemiológica (Martin et al., 2006), lo cual origina que esta investigación en conjunto con las anteriores nos ofrezca una visión al status de un país libre de Influenza aviar, más aún al confirmarse que hay presencia del vIA en aves silvestres acuáticas (Segovia, 2010; Ghersi et al, 2011).

Es aceptado en líneas generales que las aves acuáticas silvestres son los principales reservorios de la enfermedad, más el papel de las aves reproductoras es de diseminador secundario de la infección. A pesar de esto las grandes pérdidas económicas causadas por la enfermedad se dan en estas aves debido a su alto precio y que al eliminarlas se pierde todos sus futuros huevos incubables (FAO, 2022).

Estudios en el mundo concluyeron que las gallináceas domésticas son susceptibles a la infección con el vIA y que en ellas ocurren las mutaciones virales para poder adaptarse al nuevo hospedero, los cuales dan origen a las cepas de IAAP (Suarez, 2000). En las aves comerciales, ya sean aves reproductoras, gallinas de postura, pollos de carne o aves de traspatio en zonas endémicas y no endémicas de Influenza aviar, el método de vigilancia utilizado como prueba tamiz es el ELISA debido al bajo costo que representan y a la rapidez con la que se obtienen los resultados (SENASA, 2017). Es por ello que en el presente estudio se consideró usar esta prueba serológica. Sin embargo, si se logra determinar presencia de anticuerpos frente a Influenza A se debe realizar pruebas confirmatorias tales como el AGID o con la HI (Swayne et al., 2013).

En los estudios serológicos realizados en los últimos años en Sudamérica tenemos que en 2017 se evidenció la presencia anticuerpos frente a Influenza A en 06 granjas de aves comerciales, pero al realizar la prueba de HI no se evidencio presencia de anticuerpos contra los serotipos más patógenos (Lugo, 2017). Por otro lado, en 2019 se demostró la presencia de anticuerpos frente a Influenza A en aves de traspatio de Ecuador (Tandazo, 2019), de la misma manera ese mismo año se evidenció la presencia de anticuerpos en aves silvestres de Ecuador (Luzuriaga, 2019). Todos estos resultados concluyen que en Ecuador no hay riesgo de infección por Influenza A en aves comerciales de la misma manera que el estudio realizado.

VI. CONCLUSIÓN

La prevalencia de anticuerpos contra el virus de la influenza tipo A en Aves reproductoras del departamento de Lima evaluados mediante la técnica de ELISA competitivo fue de 0%.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alhбом A, Norel S. 1990. Introduction to Modern Epidemiology. 2da edition. Creat britian blackwell scientific. P 115-120
2. Belshe R. 2005. The Origins of Pandemic Influenza — Lessons from the 1918 Virus. *N Engl J Med* 2005; 353:2209-2211
3. Benedictis P, Capua M. 2007. Inactivation of Avian Influenza Viruses by Chemical Agents and Physical Conditions: A Review. *Zoonoses and Public Health*, 54(2): 51-68.
4. Benson E, Alphin R, Dawson M, Malon G. 2009. Use of water-based foam to depopulate ducks and other species. *Poultry Science* Volume 88 (5): 904-910.
5. Berrios P. 2002. Influenza Aviar en Chile, *Revista de Extensión Tecnovet*. Año 8 N°3 [Internet], [diciembre de 2002]. Disponible en: https://web.uchile.cl/vignette/tecnovet/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D17128%2526ISID%253D626,00.html
6. Bosch F, Orlich M, Klenk H, Rott R. 1979. The structure of the hemagglutinin, a determinant for the pathogenicity of influenza viruses. *Virology* Vol. 95 197-207.
7. Brown I. 2000. The epidemiology and evolution of influenza viruses in pigs. *Veterinary Microbiology* 74: 29-46.
8. Buscaglia C. 2004. Influenza Aviar. En *Vet. Artículos de Revisión. Fac. Ciencias Veterinarias. Univ. Nac. De la Plata. Bs As. Argentina*. In *Vet* 2004. 6 (1): 71-84
9. Capua I, Marangon S. 2000. The avian influenza epidemic in Italy, 1999—2000: A review. *Avian Pathology* Vol 29: 289– 294
10. Carrada T. 2010. Influenza: Avances recientes en virología molecular y prevención de la enfermedad. *Rev Mex Patol Clin*, Vol. 57, Núm. 2, p 59-93.
11. [CDC] Center for Disease Control and Prevention. 2021. CDC Update on A(H5N6) Bird Flu: How is the U.S. CDC Monitoring A(H5N6) Infections and Contributing to Global Pandemic Preparedness? [Internet], [01 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/flu/spotlights/2021-2022/H5N6.htm#:~:text=As%20of%20October%2029%2C%202021%2C%20of%20the%2051%20laboratory%2D,25%20infections%20resulted%20in%20death>.

12. [CDC] Centro para el Control y Prevención de Enfermedades. 2021. Cómo puede mutar el virus de Influenza: variaciones menores y mayores. [Internet], [21/09/2021]. Disponible en: <https://espanol.cdc.gov/flu/about/viruses/change.htm>
13. [CDC] Centro para el Control y Prevención de Enfermedades. 2015. Contagio de los virus de la influenza aviar A entre animales y personas. [Internet], [10/02/2015]. Disponible en: <https://espanol.cdc.gov/flu/avianflu/virus-transmission.htm>
14. [CDC] Centro para el Control y Prevención de Enfermedades. 2022. Infecciones por el virus de Influenza Aviar en humanos. [Internet], [10/03/2022]. Disponible en: <https://espanol.cdc.gov/flu/avianflu/avian-in-humans.htm>
15. [CDC] Centro para el Control y Prevención de Enfermedades. 2022. Los virus de la Influenza tipo A. [Internet], [09 de marzo de 2022]. Disponible en: <https://espanol.cdc.gov/flu/avianflu/influenza-a-virus-subtypes.htm>
16. [CDC] Center for Disease Control and Prevention. 2021. Summary of Influenza Risk Assessment Tool (IRAT) Results. [Internet], [02 de diciembre de 2021]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/flu/pandemic-resources/monitoring/irat-virus-summaries.htm>
17. [CFSPH] The Center for Food Security & Public Health. 2016. Influenza. [Internet], [febrero de 2016]. Disponible en: <https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/influenza.pdf>
18. Chen H, Liu S, Liu J, Chai C, Mao H, Yu Z, Tang Y, Zhu G, Chen H, Zhu C, Shao H, Tan S, Wang Q, Bi Y, Zou Z, Liu G, Jin T, Jiang C, Gao G, Oh M, Wei S, Chen E. 2016. Nosocomial Co-Transmission of Avian Influenza A(H7N9) and A(H1N1) pdm09 Viruses between 2 Patients with Hematologic Disorders. [Internet], [15 de marzo de 2016]. Disponible en: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/22/4/15-1561_article
19. Clavijo A, Riva J, Copps J, Rovinson Y. 2001. Assessment of the pathogenicity of an emu-origin influenza A H5 virus in ostriches (*Struthio camelus*). *Avian Pathology* Vol 30: 83-89.
20. Daniel D. 1996. *Bioestadística Base para el Análisis de las Ciencias de la Salud*. 5 ed. México. 878 p.
21. Dalziel A, Delean S, Heinrich S, Cassey P. 2016. Persistence of Low Pathogenic Influenza A Virus in Water: A Systematic Review and Quantitative Meta-Analysis. *PLOS ONE* 11(12): 1-24.

22. De Vriese J, Steensels M, Palya V, Gardin Y, Moore Dorsey K, Lambrecht B, Van Borm S and van den Berg T. 2010. Passive Protection Afforded by Maternally-Derived Antibodies in Chickens and the Antibodies' Interference with the Protection Elicited by Avian Influenza-Inactivated Vaccines in Progeny. *Avian Diseases* Vol 54: 246-252.
23. Digard P. 2009. Myxovirus. In: *Microbiology Bytes: Virology: Orthomyxovirus*; Actualized April 8, 2009. p. 12
24. Easterday B, Hinshaw V, Halvorson D. 1997. Influenza. En: Calnek B.W, eds. *Diseases of Poultry*, 10a ed. Iowa State University Press: Ames, IA. p 583–605
25. [ecdc] European Centre for Disease Prevention and Control. 2021. Threat Assessment Brief: First identification of human cases of avian influenza A(H5N8) infection. [Internet], [24 de febrero de 2021]. Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/threat-assessment-first-human-cases-avian-influenza-h5n8>
26. [efsa] European Food Safety Authority. 2008. Animal health and welfare aspects of avian influenza and the risk of its introduction into the EU poultry holdings. *The EFSA Journal*:715: 1-161.
27. [FAO]. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación. 2007. Vigilancia de la Influenza Aviar altamente patógena en aves silvestres. [Internet], [02/02/2022]. Disponible en: <https://www.fao.org/3/a0960s/a0960s.pdf>
28. [FAO]. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2022. Global AIV with Zoonotic Potential situation update. [Internet], [23/03/2022]. Disponible en: https://www.fao.org/ag/againfo/programmes/en/empres/Global_AIV_Zoonotic_Update/situation_update.html
29. [FAO]. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2022. H7N9 situation update. [Internet], [06 de abril de 2022]. Disponible en: https://www.fao.org/ag/againfo/programmes/en/empres/h7n9/situation_update.html
30. [FAO]. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación. 2022. Influenza Aviar. Socio-Economía. [Internet], [01 de enero de 2022]. Disponible en: https://www.fao.org/avianflu/es/socialeconomics_es.html

31. Flores-Munguia M, Vásquez L, Ramos G. 2007. Glicobiología del virus de Influenza A. *Rev Latinoam Microbiol* 2007; 49 (3-4): 74-87.
32. Fouchier R, Bestebroer T, Jerfst S, Van Der Kemp L, Rimmelzwaan G, Osterhaus A. 2000. Detection of Influenza A Viruses from Different Species by PCR Amplification of Conserved Sequences in the Matrix Gene. *J Clin Microbiol*. Vol 38(11): 4096–4101.
33. Furuse Y, Suzuki A, Kamigaki T, Oshitani H. 2009. Evolution of the M gene of the influenza A virus in different host species: large-scale sequence analysis. *Virol J* 6, 67.
34. Gaydos J, Top F, Hodder R, Russell P. 2006. Swine Influenza A Outbreak, Fort Dix, New Jersey, 1976. *Emerg Infect Dis* Vol 12(1): 23–28.
35. García-García J, Ramos C. 2006. La influenza, un problema vigente de salud pública. *Salud Publica Mex*; 48: 244-267.
36. Ghersi BM, Blazes DL, Icochea EA, González RV, Kochel T, Tinoco YF, Sovero. MM, Lindstron S, Shu B, Klimov A, Gonzales A, Mongtgomery JM. 2009. Avian Influenza in Wild Birds, Central Coast of Peru. *Emerging Infect Dis* 15(6): 935-938.
37. Ghersi BM, Sovero M, Icochea E, González R, Blazes D, González A, Montgomery J. 2011. Isolation of Low-pathogenic H7N3 Avian Influenza from Wild Birds in Peru. *J Wildl Dis* 1 July 2011; 47 (3): 792–795.
38. Gubareva L, Kaiser L, Hayden F. 2000. Influenza virus neuraminidase inhibitors. *The Lancet*. Volume 355, Issue 9206, p 827-835.
39. Gutiérrez Maria de los Ángeles. 2020. Perú libre de Influenza Aviar: Trabajo conjunto del SENASA, AMEVEA y sector avícola. [Internet], [11 de febrero del 2020]. Disponible en: <https://avicultura.info/peru-libre-de-influenza-aviar/>
40. Hall J, Ip H, Franson C, Meteyer C, Nashold S, Teslaa J, French J, Redig P, Brand C. 2009. Experimental Infection of a North American Raptor, American Kestrel (*Falco sparverius*), with Highly Pathogenic Avian Influenza Virus (H5N1). *Plos One* Vol 4(10): 1-10.
41. Heneidi A. 2018. Infleunza Aviar: Experiencias en México y factores de riesgo identificados. [Internet], [15 de febrero de 2022]. Disponible en: https://www.conave.org/wp-content/uploads/2018/11/Assad-Heneidi-Influenza-aviar_experiencias-en-Mexico-y-factores-de-riesgo-

identificados.pdf

42. Hirst G. 1941. The Agglutination of Red Cells by Allantoic Fluid of Chick Embryos Infected with Influenza Virus. *Science*. Vol 94, Issue 2427: 22-23
43. Horimoto T, Kawaoka Y. 2001. Pandemic Threat Posed by Avian Influenza A Viruses. *Clinical Microbiology Reviews*. Jan. 2001, p. 129–149
44. Hulse D, Webster R, Russell R, Perez D. 2004. Molecular Determinants within the Surface Proteins Involved in the Pathogenicity of H5N1 Influenza Viruses in Chickens. *J Virol*. Vol 78(18): 9954–9964.
45. [ICTV] International Committee on Taxonomy of Viruses. 2021. Taxon Details. [Internet], [julio de 2021]. Disponible en: https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202103956
46. Iglesias I. 2011. Modelo epidemiológico de difusión de la Influenza Aviar Altamente Patógena. Tesis Doctoral de Medicina Veterinaria. Madrid. Universidad Complutense de Madrid. 245 p.
47. [INEI] Instituto Nacional de Estadística e Informática. 2021. Informe Técnico de Producción Nacional. [Internet], [09 de setiembre de 2021]. Disponible en: https://www.inei.gov.pe/media/principales_indicadores/09-informe-tecnico-produccion-nacional-jul-2021.pdf
48. Iqbal M. 2009. Controlling avian influenza infections: The challenge of the backyard poultry. *J Mol Genet Med* Vol 3(1), 119-120.
49. Ito T, Kawaoka Y. 2000. Host-range barrier of influenza A viruses. *Vet Microbiol*. Vol 74(1-2):71-75.
50. Jackwood M, Swayne D. 2007. Pathobiology of Asian Highly Pathogenic Avian Influenza H5N1 Virus Infections in Ducks. *Avian Diseases*, 51(1): 250-259.
51. Jackwood M, Swayne D. 2009. Pathogenesis and pathobiology of avian influenza virus infection in birds. *Rev Sci Tech*. 2009 Apr;28(1):113-36.
52. Kaplan B, Webby R. 2013. The avian and mammalian host range of highly pathogenic avian H5N1 influenza. *Virus Res*. Vol 178(1): 3–11.
53. Keawcharoen J, Oraveerakul K et al. 2004. Avian Influenza H5N1 in Tigers and Leopards. *Emerg Infect Dis* 10(12): 2189–2191
54. Knipe D, Howley P. 2007. *Fields Virology*. 5th edition. Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins: 3177 pp.

55. Laudert E, Sivanandan V, Halvorson D. 1993. Effect of an H5N1 Avian Influenza Virus Infection on the Immune System of Mallard Ducks. *Avian Diseases* Vol. 37, No. 3: 845-853.
56. Lee C, Suarez D. 2004. Application of real-time RT-PCR for the quantitation and competitive replication study of H5 and H7 subtype avian influenza virus. *Journal of Virological Methods*
57. Vol 119(2) :151-158.
58. Lee C, Senne D, Suarez D. 2004. Effects of Vaccine use in the evolution of Mexican lineage H5N2 Avian Influenza Virus. *J Virol.* 78(15): 8372-8381.
59. Lee C, Suarez D, Tumpey T, Sung H. 2005. Characterization of highly pathogenic H5N1 avian influenza A viruses isolated from South Korea. *J Virol.* 79: 3692-3702.
60. Linzitto O, Espinoza C, Rodríguez C, Pecoraro M. 2011. Reseña sobre vigilancia y prevención
61. de la influenza aviar y rol zoonótico. *Acta Bioquím Clín Latinoam* Vol 39(4): 485-492.
62. Liu J, Xiao H, Lei F, Zhu Q et al. 2013 Highly Pathogenic H5N1 Influenza virus infection in migration birds. *Science* Vol 309 N° 5738: 1206.
63. Lupiany B, Reddy S. 2009. The History of Avian Influenza. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases.* 2009. Jul;32(4):311-23.
64. Luzuriaga N, Rivera X, Salazar R, Reyes N, Santiana I. 2019. Detección de anticuerpos séricos de influenza aviar tipo A, enfermedad de Newcastle, bronquitis infecciosa y laringotraqueitis infecciosa en aves acuáticas silvestres de tres lagunas andinas del Ecuador. *Rev. investig. vet. Perú* vol.30 (3): 1283-1291.
65. Lugo K. 2017. Detección del virus de Influenza Aviar en *Gallus gallus domesticus* de granjas industriales del Ecuador mediante diagnóstico serológico. Tesis de Médico Veterinario y Zootecnista. Quito. Universidad Central del Ecuador. 74 p.
66. Lycett S, Duchatel F, Digard P. 2019. A brief history of bird flu. The Royal Society Publishing. [Internet], [06 de mayo de /2019]. Disponible en: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rstb.2018.0257>
67. Martin V, Forman A, Lubroth, J. 2006. Preparing for Highly Pathogenic Avian Influenza: A Manual for Countries at Risk. [OIE]. [Internet], [4/1/2013]. Disponible en:

http://www.adap.hawaii.edu/adap/avian_flu/AI_Manuals/FAO_OIE_%20HPAIm anual.pdf.

68. Medina R, García A. 2011. Influenza A viruses: new research developments. *Nature Revi*
69. [MINAGRI]. Ministerio de Agricultura y Riego. 2019. Boletín Estadístico Mensual de la Producción y Comercialización de Productos Avícolas. [Internet], [febrero del 2019]. Disponible en:<http://siea.minagri.gob.pe/siea/sites/default/files/produccion-comercializacion-avicola-dic19-070220.pdf>
70. [MINAGRI]. Ministerio de Agricultura y Riego. 2020. Evolución de la Producción en el Sector Avícola y efectos en la cuarentena por el COVID-19. [Internet], [05/02/2022]. Disponible en: <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/1464496/Evoluci%C3%B3n%20de%20la%20producci%C3%B3n%20en%20el%20sector%20av%C3%ADcola%20y%20efectos%20durante%20la%20cuarentena%20por%20el%20COVID-19..pdf>
71. Monasi L, Icochea E. 1999. Seroprevalencia del virus de Influenza Aviar en broilers en la provincial de Huaral, Lima. *Rev Inv Vet Perú Vol*10(2):68-70.
72. Morgan, I, Westbury H..1981. Virological Studies of Adelie Penguins (*Pygoscelis adeliae*) in Antarctica. *Avian Diseases*, 25(4): 1019–1026
73. Murphy BR, Webster RG. 1996. Orthomyxoviruses. En: Knipe DM, Howley PM, ed. *Fields virology vol. 1*. 3a. ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1397-1445.
74. Nayak D, Ka-Wa-Hui E, Barman S. 2004. Assembly and budding of Influenza virus. *Virus Research Vol. 106*(2): 147-165.
75. Nettles V, Wood J, Webster R. 1985. Wildlife Surveillance Associated with an Outbreak of Lethal H5N2 Avian Influenza in Domestic Poultry. *Avian Diseases Vol. 29*, No. 3: 733-741.
76. Neumann, G., Brownlee, G.G., Fodor, E., Kawaoka, Y. 2004. Orthomyxovirus Replication, Transcription, and Polyadenylation. En: Kawaoka, Y. (eds) *Biology of Negative Strand RNA Viruses: The Power of Reverse Genetics*. Vol 283: Springer, Berlin, Heidelberg. p 121-143.
77. Nin A, Falconi C. 2006. Impacto económico potencial de la influenza aviar en el sector avícola de América Latina y el Caribe. Banco Interamericano de Desarrollo. Serie de informes técnicos del Departamento de Desarrollo Sostenible. 78p.

78. Noda J. 2006. Virus de la Influenza Aviar: Características Genéticas Antigénicas y Diagnóstico Actual. *Rev Salud Anim. Cuba.* 28(3): 147-57.
79. [OIE] Organización Mundial de Salud Animal. 2021.. Manual terrestre de la OIE. Influenza Aviar (Incluida la infección de Influenza Aviar altamente patógenos). [Internet]. Disponible en: https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.03.04_AI.pdf
80. [OIE-WAHIS] World Animal Health Information System of the World Organisation for Animal Health. 2021. High pathogenicity Avian Influenza (HPAI) – Situation report. [Internet], [13 de diciembre de 2021]. Disponible en: <https://www.oie.int/app/uploads/2021/12/hpai-situation-report-20211213.pdf>
81. Okazaki K, Takada A, Ito T, Imai M, Takakuwa H, Hatta M, Ozaki H, Tanizaki T, Nagano T, Ninomiya A, Demenev V, Tyaptirganov M, Karatayeva T, Yamnikova S, Lvov D, Kida H. 2000. Precursor genes of future pandemic influenza viruses are perpetuated in ducks nesting in Siberia. *Arch Virol* 145: 885–893.
82. Olsen B, Munster V, Wallensten A, Waldenstrom J, Osterhaus A, Fouchier R. 2006. Global Patterns of Influenza A Virus in Wild Birds. *Science* Vol 312: 384-388.
83. Pantin-Jackwood M, Swayne D. 2009. Pathogenesis and pathobiology of avian influenza virus infection in birds. *Rev Sci Tech* Vol 28(1):113-136.
84. [PDB] Proteina Data Bank. 2006. Hemagglutinin. [Internet], [abril del 2006]. Disponible en: <https://pdb101.rcsb.org/motm/76>
85. Peacock T, James J, Sealy J, Iqbal M. 2019. A Global Perspective on H9N2 Avian Influenza Virus. [Internet], [5 de julio de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6669617/#B66-viruses-11-00620>
86. Perera C, Díaz H, Pérez L. 2011. Actualización y perspectivas en el diagnóstico del virus de la Influenza Aviar. *Rev. Salud Anim.* Vol. 33 (1): 1-7.
87. Reperant L, van Amerongen G, van de Bildt M, Rimmelzwaan G, Dobson A, Osterhaus A, Kiuken T. 2008. Highly Pathogenic Avian Influenza Virus (H5N1) Infection in Red Foxes Fed Infected Bird Carcasses. *Emerg Infect Dis.* Vol 14(12): 1835–1841.
88. Rojas H, Moreira R. 2009. Influenza Aviar en Chile: Una Sinopsis. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. [Internet], [30/01/2022]. Disponible en: <https://www.ceresbca.cl/images/pdf/influenzaaviarfin.pdf>

89. Sáenz E. 2010. Detección del virus de Influenza Aviar en pavos de crianza familiar en las provincias de Lima, Huaral, Huaura, Canta y Barranca. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos.
90. [SAG] Servicio Agrícola y Ganadero. 2020. Autodeclaración de Chile como país libre de Influenza aviar en aves de corral. [Internet], [01/04/2020]. Disponible en: https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/Self-declarations/2020_11_Chile_SelfDeclaration_IA_ESP.pdf
91. [SAG] Servicio Agrícola y Ganadero. 2017. Informe: Estado de situación casos de detección virus influenza aviar de Baja Patogenicidad en aves de producción en Chile – 2017. [Internet], [20 de enero de 2022]. Disponible en: http://www.sag.cl/sites/default/files/informe_casos_ia-2017_v10.pdf
92. Salazar I, López O, León G, Ramírez J, Castro M. 2010. El origen de la variabilidad genética de los virus de Influenza. Gac Méd Méx Vol. 146 No. 3, 2010, p 199-206.
93. Segovia K. 2013. Presencia del virus de influenza aviar en aves silvestres de los humedales de Puerto Viejo. Rev Inv Vet Perú 2013; 24(1): 98-103.
94. [Senasa] Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. 2017. Manual de Procedimientos: Contingencia de la Influenza Aviar. [Internet], [10 de febrero de 2022]. Disponible en: https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/manual_de_procedimientos_-_plan_de_contingencia_de_ia_res._ndeg_73.2010.pdf
95. [SENASA] Servicio Nacional de Sanidad Agraria. 2002. Aprueban Plan de acción para la prevención de la enfermedad de Influenza Aviar en el Perú. Resolución Jefatural N.º 230-2002-AG-SENASA. [Internet], [05 de febrero de 2022]. Disponible en: https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/jer/SAN_AVI/1175.pdf
96. [SENASA] Servicio Nacional de Sanidad Agraria. 2005. Resolución Jefatural N°273-2005-AG-SENASA. [Internet], [10 de marzo de 2022]. Disponible en: <https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/2014/11/0610.pdf>
97. [SENASA]. Servicio Nacional de Sanidad Agraria. 2017. Senasa: Perú libre de Influenza Aviar. [Internet], [29 de marzo de 2017]. Disponible en: <http://www.senasa.gob.pe/senasacontigo/senasa-peru-libre-de-influenza-aviar/>

98. [SENASA]. Servicio Nacional de Sanidad Agraria. 2021. Vigilancia activa del SENASA monitorea condición sanitaria de aves en Arequipa. [Internet], [21/03/2021]. Disponible en: <https://www.senasa.gob.pe/senasacontigo/vigilancia-activa-del-senasa-monitorea-condicion-sanitaria-de-aves-en-arequipa/>
99. [SENASICA] Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. 2011. Manual de procedimientos para la prevención, control y erradicación de la Influenza aviar de alta patogenicidad (IAAP). [Internet], [08/2011]. Disponible en: http://www.zoonosis.unam.mx/contenido/m_academico/archivos/Manual_Emergencia_control_erradicacion_Influenza_Aviar_Alta_Patogenicidad.pdf
100. Slemons R, Easterday B. 1972. Host response differences among 5 avian species to an influenza virus-A/turkey/Ontario/7732/66 (Hav5N?). Bull. Wld Hith Org. Vol 47: 521-525.
101. Smith G, Vijaykrishna D, Bahl J, Lycett S, Worobey M, Pybus O, Ma S, Cheung C, Rahgwani J, Bhatt S, Malik J, Guan Y, Rambaut A. 2009. Nature. Volume 459: 1122-1126.
102. Spackman E, Suarez D. 2016. Avian Influenza. En: A Laboratory Manual for the Isolation, Identification, and Characterization of Avian Pathogens Sexta Edición ed. American Association of Avian Pathologists. p 161-170
103. Spackman E, Pedersen J, McKinley E, Gelb J. 2013. Optimal specimen collection and transport methods for the detection of avian influenza virus and Newcastle disease virus. BMC Veterinary Research Vol 9: 1-12.
104. Spreeuwenberg P, Kroneman M, Paget J. 2018. Reassessing the Global Mortality Burden of the 1918 Influenza Pandemic. American Journal of Epidemiology, Volume 187, Issue 12, December 2018, Pages 2561–2567.
105. Stieneke R, Vey M, Angliker H et al. 1992. Influenza virus hemagglutinin with multibasic cleavage site is activated by furin, a subtilisin-like endoprotease. EMBO J Vol. 11: 2407-2414.
106. Suarez D. 2000. Evolution of avian influenza viruses. Veterinary Microbiology Vol 74(1–2),: 15-27.
107. Suarez D, Schultz, C. 2000. Immunology of avian influenza virus: a review. Dev Comp Immunol Vol 24(2-3): 269-283.

108. Swayne DE, Suarez DL. 2000. Highly pathogenic avian influenza. *Rev Sci Tech.* 19(2):463- 82.
109. Swayne D.E. 2000. Understanding the ecology and epidemiology of avian influenza: implications for zoonotic potential. En: *Emerging Diseases of Animals*, C.C.Brown and C.A. Bolin, eds ASM Press, Washington, D.C. 101-130
110. Swayne D.E. 2007. Proceedings of the Sixth International Symposium on Avian Influenza. *Avian Dis.* Vol 51: 157-214.
111. Swayne D. 2008. *Avian Influenza Control Strategies*. Swayne, ed. Avian Influenza. 1th Ed. Blackwell Publishing. pp. 287-297.
112. Swayne D.E., Pavade G, Hamilton K, Vallat B, Miyagishima K. 2011. Assesment of national strategies for control of high pathogenicity avian influenza and low pathogenicity notifiable avian influenza in poultry, with emphasis on vaccines and vaccination. *OIE Rev Sci Tech* Vol. 30: 839-870.
113. Swayne *et al.* 2013. *Influenza. Diseases of poultry.* 13a. Estados Unidos, Iowa: Blackwell Publishing. p 181-218.
114. Sylte M, Hubby B, Suarez D. 2007. Influenza neuraminidase antibodies provide partial protection for chickens against high pathogenic avian influenza infection. *Vaccine* Vol 25(19): 3763-3772.
115. Tandazo A. 2019. Prevalencia serológica de la enfermedad Influenza Aviar en aves de traspatio de la provincia de Loja. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Loja. Universidad Nacional de Loja. 39 p.
116. [USAHA] United States Animal Health Association. 1994. Report of the Committee on Transmissible Diseases of Poultry and Other Avian Species. Criteria for determining that an AI virus Isolation causing an Outbreak must be considered for eradication. *Prroc. US Anim Heal Assoc.* 89: 296-305.
117. Vahlenkamp T, Teifke J, Harder T, Beer M, Mettenleiter T. 2010. Systemic influenza virus H5N1 infection in cats after gastrointestinal exposure. *Influenza and Other Respir Viruses.* Vol 4(6): 379–386.
118. Valladares J. 2015. Detección del virus de Influenza aviar en patos domésticos de crianza familiar en las provincias de Huaral y Huaura. Tesis de Médico Veterinario. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 65 p.

119. Van Reeth K. 2007. Avian and swine influenza viruses: our current understanding of the zoonotic risk. *Vet. Res.* 38 (2): 243-260
120. Verdugo G. 2004. Evaluación del Impacto Económico de un brote de Influenza Aviar altamente patógena en planteles de producción avícola en Chile. Tesis de Médico Veterinario. Santiago. Universidad de Chile. 117 p.
121. Webby R, Swenson S, Krauss S, Gerrish P, Goyal S, Webster R. 2000. Evolution of Swine H3N2 Influenza Viruses in the United States. *J. Virol* 74(18): 8243-8251.
122. Webster R, Yakhmo M, Hinshaw V, Bean W, Murti K. 1978. Intestinal influenza: Replication and characterization of influenza viruses in ducks. *Virology* Vol 84(2): 268-278.
123. Webster R, Hulse D. 2004. Microbial adaptation and change: avian influenza. *Rev Sci Tech* 23(2): 453-465.
124. WHO Expert Committee. 1980. A revision of the system of nomenclature for influenza viruses: A WHO memorandum. *Bull WHO.* 585-591.
125. Wilkinson K. 2007. The biosecurity of on-farm mortality composting. *Journal of Applied Microbiology*, 102(3): 609-618.
126. Yamamoto Y, Nakamura K, Kitagawa K, Ikenaga N, Yamada M, Nase M, Narita M. 2007. Severe Nonpurulent Encephalitis with Mortality and Feather Lesions in Call Ducks (*Anas platyrhyncha var. domestica*) Inoculated Intravenously with H5N1 Highly Pathogenic Avian Influenza Virus. *Avian Diseases*, 51(1):52-57.

VIII ANEXOS

Anexo 1: Kit para la detección de anticuerpos frente al Virus de la Influenza A

Reactivos:

- Placas tapizadas con antígeno del virus de Influenza A
- Control positivo
- Control negativo
- Conjugado Anti-Influenza A
- Diluyente de la muestra
- Sustrato TMB
- Solución de frenado
- Solución concentrada de lavado (10X)

Preparación de las muestras

Diluya las muestras 10 veces (1/10) con el diluyente de muestras antes de analizarlas. No olvide de cambiar las puntas para cada muestra. Las muestras deben estar mezcladas correctamente antes de dispensarlas.

Procedimiento de la prueba

1. Tome una o mas placas tapizadas con antígeno y anote la posición de la muestra en una ficha de trabajo.
2. Dispense 100 ul de control negativo no diluido en dos pocillos.
3. Dispense 100 ul de control positivo no diluido en dos pocillos.
4. Dispense 100 ul de muestra diluida en los pocillos correspondientes.
5. Incube durante 60 minutos (+/- 5 minutos) a 18-26°C.
6. Lave cada pocillo con aproximadamente 350 ul de solución diluida de lavado por 3 a 5 veces.
7. Dispense 100 ul de conjugado en cada pocillo
8. Incube durante 30 minutos (+/- 2 minutos) a 18-26°C.
9. Repita el paso 6
10. Dispense 100 ul de solución sustrato TMB en cada pocillo.
11. Incube durante 15 minutos (+/- 1 minuto) a 18-26°C.
12. Dispense 100 ul de la solución de frenado en cada pocillo para detener la reacción.
13. Calibre el lector en blanco con aire.

14. Mida y anote los valores de la absorbancia a 650 nm.

Interpretación de los resultados

En el caso de muestras de suero de aves, las muestras con valores $M/N < 0.50$ deberán considerarse positivas a la presencia de anticuerpos frente a la Influenza A. Las muestras con una relación $M/N > 0.50$ se consideran negativas a la presencia de anticuerpos frente a la influenza A.