

Influenza aviar: estado actual

Carlos Arturo Aguirre Muñoz¹, Ana Eugenia Arango Restrepo²

«La influenza aviar representa una crisis sin precedentes, con un complejo impacto epidemiológico y económico»

J. Domenech, J. Lubroth, V. Martin.

*International Scientific Conference on Avian Influenza and Wild Birds;
May 30-31, 2006. Roma, Italia*

Resumen: la influenza es una enfermedad viral aguda, debilitante y generadora de morbi-mortalidad especialmente en los niños, los ancianos y las personas inmunodeficientes o con otras condiciones debilitantes. Es producida por miembros de la familia Orthomyxoviridae, que incluye los tipos A, B y C. Los virus de influenza A pueden infectar tanto al hombre como a los animales y poseen una gran plasticidad genética que les permite mutar y eludir la inmunidad poblacional y generar desde brotes locales hasta pandemias. Estas últimas ocurren cada 10 a 50 años, como consecuencia de cambios mayores en las proteínas virales externas, avanzan en ondas sucesivas y en pocos meses o algunos años, pueden darle la vuelta al mundo. Las aves poseen cepas de virus de influenza A genéticamente distintas de las que afectan a los humanos. Aunque no todas son igualmente patógenas, su circulación en la población aviar puede hacerlas mutar y convertirlas en cepas muy virulentas, tanto para las aves como para otros hospederos, incluyendo la especie humana. En los últimos 50 a 60 años, se han presentado en el mundo unos 21 brotes de influenza aviar altamente patógena que permanecieron restringidos geográficamente y no traspasaron la barrera de especie ave-humano. A partir de 1997, la variante A H5N1, ha causado más de 19 brotes en las aves comerciales de diversos países y ha adquirido un mayor potencial patógeno que le ha permitido afectar otras especies, como felinos y humanos, vaticinando una probable pandemia. Los expertos consideran que una pandemia de influenza tendría consecuencias devastadoras, con incalculables efectos para la especie humana, para la economía mundial y para la estabilidad política y social de muchos países. Por tanto, se necesitan grandes esfuerzos financieros y una muy buena estructura de salud para aminorar algunas de estas consecuencias.

En este artículo se revisan los aspectos principales de esta inquietante amenaza.

Palabras clave: influenza aviar, pandemia, epidemiología, cambios antigénicos, vacunas.

Aguirre-Muñoz CA, Arango-Restrepo AE. Influenza aviar: estado actual. *Medicina & Laboratorio* 2006; 12: 411-437.

Módulo 15 (Virología), número 11. Editora Médica Colombiana S.A., 2006®.



La influenza es una infección viral respiratoria potencialmente debilitante e inductora de complicaciones que generan hospitalización y pueden ocasionar la muerte, especialmente en los adultos mayores de 65 años, los niños menores de 2 años y las personas inmunodeficientes o con otras condiciones debilitantes. Se calcula que cada año ocurren unos 3 a 5 millones de casos graves de la enfermedad y entre 300 y 500 mil muertes por esta causa.

¹ Pediatra Virólogo, Profesor Departamento de Pediatría y Puericultura, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. e-mail: aguirremunoz@hotmail.com

² Bacterióloga, MSc en Microbiología, Profesora Departamento de Microbiología y Parasitología, Grupo de Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Las epidemias ocurren cada 1 a 2 años, debido a la introducción de mutaciones genéticas puntuales de las proteínas superficiales del virus (hemaglutinina y neuraminidasa), contra las cuales la población no tiene inmunidad o solamente posee inmunidad parcial. Como consecuencia de cambios mayores de las mencionadas proteínas virales, cada 10 a 50 años se presentan pandemias, las cuales circulan en forma de ondas sucesivas y en algunos meses o pocos años pueden darle la vuelta al mundo, con un potencial efecto devastador para la población humana.

En las aves se han identificado cepas de virus de influenza A genéticamente distintas de las que afectan a los humanos. Aunque no todas son igualmente patógenas, su circulación en la población aviar puede hacerlas mutar y convertirlas en cepas muy virulentas tanto para las aves como para otros hospederos, como los cerdos, los mamíferos marinos, los caballos y aun para la especie humana (ver **figura 1**). Una de estas variantes, la H5N1, ha causado más de 19 brotes en las aves para explotación comercial de diversos países. Las aves migratorias transportan el virus en sus intestinos y en las secreciones respiratorias y son decisivas en la diseminación viral. Esta cepa logró una serie de adaptaciones que le permitieron saltar la barrera de las especies y llegar así a la población humana. Aunque por ahora no se propaga fácilmente de persona a persona, se teme que esto suceda en cualquier momento debido a cambios menores o a recombinación con cepas de influenza A humana.

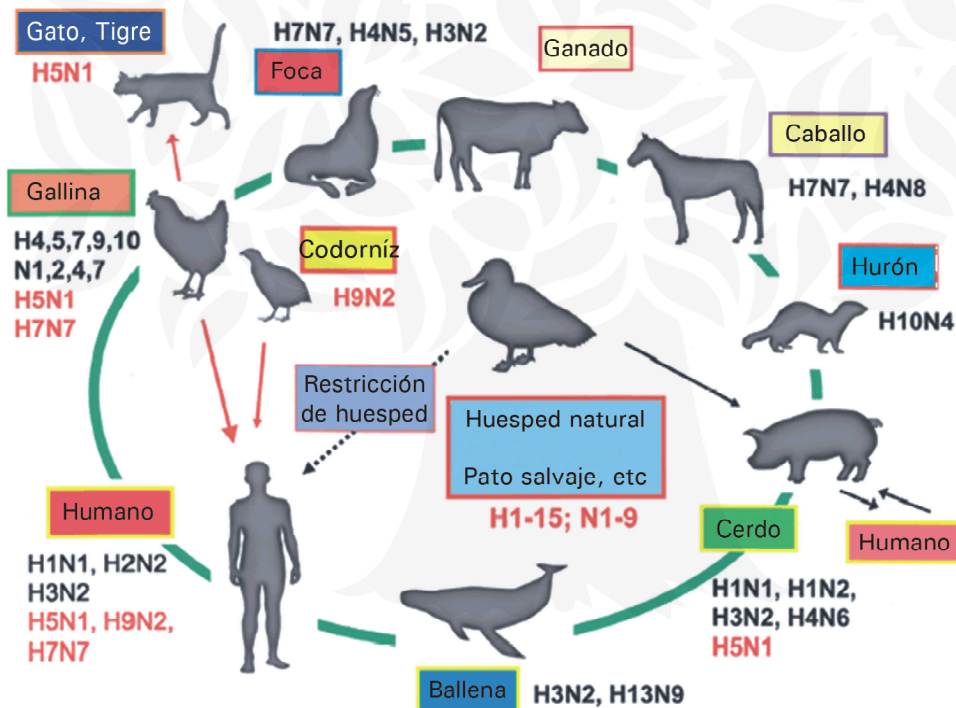


Figura 1. Ecología del virus de la influenza. Las cepas del virus de influenza A que infectan las aves son genéticamente distintas de las que infectan a los humanos. Durante su circulación en la población aviar, el virus puede mutar y adquirir mayor virulencia tanto para las aves como para otros hospederos, incluyendo los seres humanos.

Esta afección en las aves recibe el nombre de influenza aviar y se trata de una enfermedad viral respiratoria aguda, que se puede presentar en forma leve, asintomática o como una afección grave y rápidamente fatal, dependiendo de factores como la especie aviar afectada, la edad y otras condiciones del hospedero y también de propiedades características del virus asociado al brote o enfermedad. La influenza aviar existe en todo el mundo y con anterioridad a 1997, los virus aviares no habían producido infección en la especie humana. A partir de entonces y especialmente desde el año 2003, se han venido presentado casos en humanos, con una mortalidad superior al 50% de los afectados. Este hecho ha alarmado las autoridades de salud en el mundo, por la posibilidad de que se origine una pandemia a partir de uno de estos virus.

Actualmente la influenza aviar H5N1 es endémica en aves silvestres y domésticas de gran parte del continente asiático, ha afectado casi simultáneamente a numerosos países del área y se ha expandido hacia el occidente, llegando al África y a Europa. Su comportamiento epidemiológico ilustra la capacidad del virus de cruzar fronteras y las dificultades que se presentan para detenerlo.

El virus

Los virus de influenza pertenecen a la familia *Orthomyxoviridae* que comprende tres géneros: A, B y C, de los cuales A y B tienen, a su vez, varios subtipos y cepas. El tipo A puede infectar tanto al hombre como a los animales, mientras que los B y C sólo infectan la especie humana aunque, en raras ocasiones, el tipo B se ha detectado en focas y el C en cerdos. Los virus de influenza aviar son del tipo A y se denominan según los antígenos de superficie hemaglutinina (H, HA) y neuraminidasa (N, NA). Además, los virus del tipo A son los únicos que presentan los cambios antigénicos mayores (en inglés «*shift*») y menores («*drift*») y producen las pandemias, conocidas desde hace siglos por su efecto devastador para la humanidad.

Existe una gran variabilidad en los virus de influenza ya que su genoma, a base de ácido ribonucleico (ARN) de cadena simple, se encuentra dividido en 8 fragmentos y, asociada a él, se encuentra una ARN polimerasa que no corrige errores en la lectura del genoma, lo que en conjunto, le concede la propiedad de mutar permanentemente o de intercambiar uno o varios de sus fragmentos con otro virus de la misma familia, que coincida o coinfecte una misma célula.

Cada uno de los fragmentos de ARN codifica una proteína, con excepción de los segmentos 7 y 8 que codifican cada uno dos proteínas. Los fragmentos 1, 2 y 3 codifican el complejo de polimerasas PA, PB1 y PB2, necesarios para la replicación del virus; el fragmento 4 codifica la hemaglutinina (H), el 5 la nucleoproteína (NP), el 6 la neuraminidasa (N), el 7 las proteínas de matriz M1 y M2 y, finalmente, el fragmento 8 codifica las proteínas no estructurales NS1 y NS2 (ver **figura 2**).

Estos virus poseen una envoltura derivada de la célula hospedera, sobre la cual se encuentran enclavadas las proteínas H y N, consideradas como los principales antígenos virales. Los antígenos internos M1 (matriz) y NP (nucleoproteína) son específicos de tipo (A, B o C), se usan para determinar el tipo de virus productor de un brote y tienen reacción cruzada entre los virus de un mismo tipo, es decir, entre virus A por ejemplo, pero no entre virus A y B; en cambio H y N son más variables y específicos de subtipo y cepa, por lo cual su detección se emplea cuando se requiere saber de cuál cepa viral se trata y así identificar plenamente el virus. Los anticuerpos protectores en el hospedero, están dirigidos principalmente contra la H viral. Los anticuerpos contra la N, son parcialmente protectores y pueden modificar la gravedad de

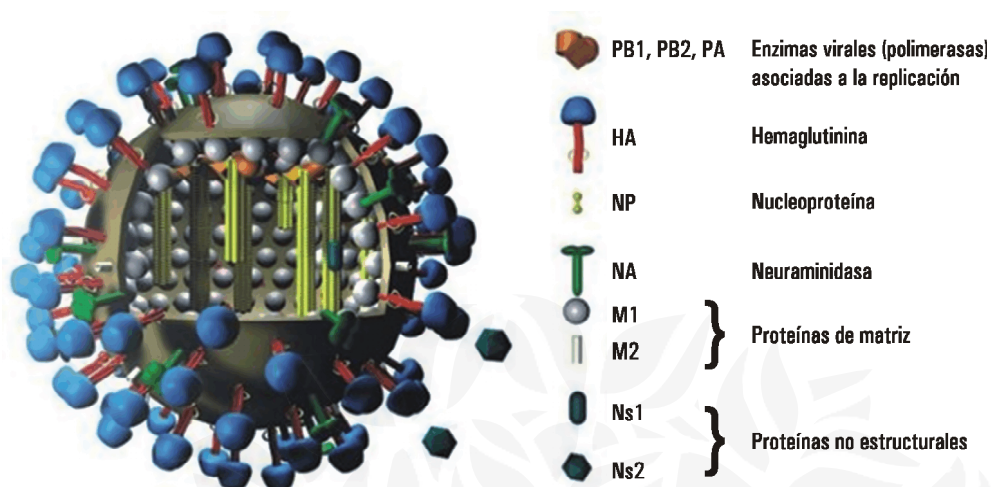


Figura 2. Estructura del virus de influenza A. Tomada de Influenza Report 2006. Paris, Flying Publisher. Disponible en www.influenzaReport.com. Autorizada para publicación por el Dr Markus Eickmann.

la enfermedad. La N es una enzima sialidasa que impide la agregación de los viriones al salir de la célula luego de la replicación, mediante la remoción del ácido siálico de la superficie de los viriones y de la célula hospedera, permitiendo así su liberación para que puedan ir a infectar otras células, vecinas o distantes.

La proteína M2 está presente en la envoltura viral, formando tetrámeros con una actividad de canal iónico muy importante pues acidifica el interior del endosoma y facilita el desnudamiento del virus. La M1 parece funcionar durante el ensamblaje y la gemación del virus, y se acepta que es una señal del momento cuando debe comenzar el ensamblaje de todos los subproductos virales. Se sabe poco del papel que juega la NS2, pero esta proteína parece tener un papel en la exportación de la ribonucleoproteína (RNP) del núcleo celular al citoplasma para su ensamblaje en el virión. La NS1 tiene una función importante para contrarrestar o interferir con la actividad del interferón del hospedero.

El blanco de la infección por influenza es la célula epitelial ciliada del tracto respiratorio, la cual muere como consecuencia de la infección viral o es destruida por otras células del sistema inmune. En el caso de la influenza aviar altamente patógena, se ha encontrado también que el virus puede infectar las células de los alvéolos y los macrófagos alveolares. La desaparición de las células ciliadas se asocia con una alteración en la producción del moco, lo que en conjunto, reduce la capacidad de eliminación o clarificación viral y abre camino para que otros patógenos, en su mayoría bacterianos, tengan acceso a otras células de la capa basal del epitelio respiratorio o incluso puedan invadir más profundamente.

De los 16 tipos de H y 9 tipos de N conocidos hasta ahora, solamente los tipos H1, H2, H3, N1 y N2, en diferentes combinaciones virales, infectan al humano. En 1997, los virus de influenza aviar H5N1 infectaron por primera vez la especie humana, atravesando la barrera de especie, directamente de las aves, algo que no había ocurrido antes. En la actualidad, circulan en humanos los subtipos de influenza A H1N1, H1N2 y H3N2. El subtipo A H2N2 circuló entre 1957 y 1968 pero desde entonces no ha reaparecido.

En los virus aviarios se han encontrado todas las combinaciones de hemaglutinina (H1 a H16) y neuraminidasa (N1 a N9). Las aves acuáticas, principalmente los patos y las aves marinas migratorias, son el reservorio natural de estos virus y generalmente no sufren la enfermedad pero pueden excretar el virus tanto por vía respiratoria como fecal, por lo menos durante 10 días, lo que favorece la diseminación.

La hemaglutinina es el principal antígeno viral y se considera como el principal factor de virulencia. Es una glicoproteína que se encuentra bajo la forma de trímero en la superficie viral. Las 3 unidades del trímero son iguales entre sí y están unidas por enlaces disulfuro. Además, la H es el sitio por donde el virus se une a la célula hospedera para iniciar el proceso infeccioso. Su receptor comprende moléculas de ácido siálico o ácido N-acetil-neuramínico (AcNeu), unidas a un azúcar, generalmente una galactosa, por medio de uniones α 2-3 gal o α 2-6 gal (AcNeu α 2-3 Gal ó AcNeu α 2-6 Gal) según se trate de virus aviarios en el primer caso o humanos en el segundo.

Los virus de influenza aviar se agrupan en virus de alta patogenicidad (conocidos como HPAI, en inglés) y de baja patogenicidad (LPAI). En el primer grupo se encuentran los virus que poseen H5 y H7, asociados con alta patogenicidad en aves de corral como gallinas, pavos y faisanes, entre otros. La mortalidad asociada a ellos puede alcanzar el 100% de los animales de la granja en unos pocos días. Sin embargo, estos virus no se comportan siempre como altamente patógenos: en diferentes brotes se ha observado que inicialmente pueden ingresar al gallinero como virus de baja patogenicidad, pero en unos pocas semanas o meses mutan hacia cepas de alta patogenicidad. En el segundo grupo o de baja patogenicidad, estarían todas las otras combinaciones de virus, entre las cuales se destaca la H9 que, aunque no ha sido altamente patógena para las gallinas, ha logrado pasar la barrera de especies, infectando niños por lo menos en dos oportunidades, aunque sin consecuencias mortales.

La H de los virus de influenza ocurre como un precursor (HA0), el cual requiere de un clivaje postraduccional mediante proteasas del hospedero, para convertirlo en HA1 y HA2, con el fin de hacerla funcional y, de este modo, hacer que el virus sea infeccioso. La HA0 de los virus aviarios de baja virulencia o patogenicidad, tiene una arginina en el sitio de clivaje, lo que limita a la acción de la tripsina y de enzimas semejantes, lo cual a su vez, restringe la replicación viral a los sitios del organismo en donde se encuentran estas enzimas, es decir en los tractos respiratorio y digestivo principalmente. En cambio, los virus de alta patogenicidad con hemaglutininas H5 y H7 poseen varios aminoácidos básicos en el sitio carboxilo terminal de la HA1 (arginina y lisina) y pueden ser clivados por tripsina y otras endoproteasas celulares ubicuas del tipo subtilisina, entre las cuales se destaca la furina. Estos virus se replican en todo el organismo del ave, dañando órganos vitales y tejidos hasta producir la muerte del animal. Los virus H5 y H7 han logrado también traspasar la barrera de especies ave-humano en un mayor número de oportunidades. Particularmente, el virus de influenza aviar A H5N1 se perfila como un excelente candidato para producir la próxima pandemia.

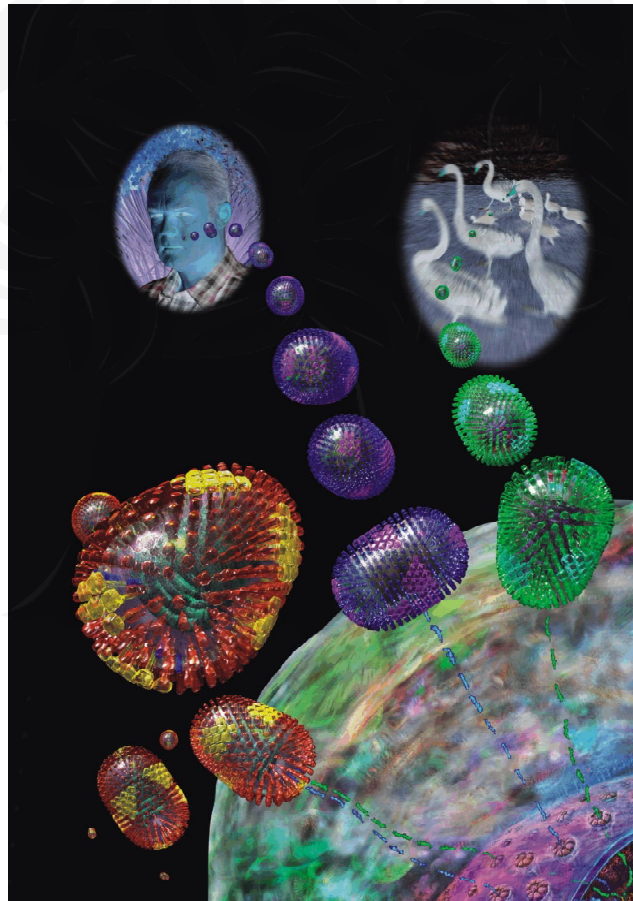
Existe cierta especificidad de los virus de influenza por un receptor celular determinado. Como se mencionó, los virus de influenza aviar utilizan los receptores conformados por moléculas AcNeu- α 2-3-Gal mientras que los virus humanos prefieren los que contienen AcNeu- α 2-6-Gal. La presencia o ausencia de estos receptores en el tracto respiratorio de un hombre o un animal, puede hacer que éste sea susceptible o resistente a la infección viral. En el tracto respiratorio de las aves predomina el primer tipo de receptores, mientras que en el humano predomina el segundo y, por esta razón, se consideraba que estos virus no infectaban al hombre. El análisis de los casos humanos de influenza aviar ha demostrado que el hombre posee en

su tracto respiratorio en forma predominante los receptores AcNeu- α 2-6-Gal, pero también tiene, en menor cantidad, los receptores de tipo aviar AcNeu- α 2-3-Gal. Esto puede haber contribuido a que se infectaran humanos con virus aviares directamente. También es posible que algunas características genéticas del virus, le proporcionen la virulencia y la capacidad de usar este y otros tipos de receptores para atravesar así la barrera de especie.

El cerdo desempeña un papel primordial en la génesis de nuevos virus de influenza con potencial pandémico y esto se debe a que tiene en su tracto respiratorio, ambos tipos de receptores (aviar y humano) en cantidades iguales y, por tanto, puede ser infectado fácilmente por cualquiera de ellos. De aquí que se considerara como el "recipiente de mezcla" para los virus de influenza. En forma repetida se han reportado infecciones mixtas (ave-cerdo, humano-cerdo, entre otras) en los cerdos, se pensó que estos animales probablemente eran el reservorio donde ocurrían los reordenamientos genéticos o cambios mayores de virus, previos a la presentación de las pandemias (ver **figura 3**). Aunque su papel sigue siendo muy importante, hoy se sabe que no es el único que permite las mezclas de virus y que este fenómeno también puede ocurrir en la especie humana.

Recientemente Olofsson y sus colaboradores encontraron que en el ojo humano existen receptores para virus de influenza y que estos son predominantemente del tipo aviar AcNeu- α 2-3-Gal. Esto llevó a postular al ojo como una vía de ingreso efectiva de los virus aviares al hombre y que durante los ciclos replicativos del virus en la conjuntiva y en el conducto lacrimal, el virus aviar puede ir adaptándose al receptor humano, predominante en el tracto respiratorio, por medio

Figura 3. Replicación de los virus de influenza humana e influenza aviar en una misma célula. Los virus de influenza aviar procedentes de las aves (representados en verde) infectan una célula susceptible. Una cepa del virus de influenza A humano (representada como viriones azules) infecta la misma célula. Los segmentos genómicos de ambos virus (líneas verdes y azules) penetran en el núcleo celular (superficie curva de color púrpura) para ser copiados. Los segmentos se recombinan para conformar un nuevo genoma y generan una nueva cepa viral (viriones rojos con amarillo), que puede ser tan letal como la cepa aviar y tiene la capacidad de diseminarse fácilmente de persona a persona, como la cepa humana. Este puede ser el origen de una nueva pandemia.



de mutaciones. El mecanismo de infección sería entonces contaminación de los ojos con los dedos o mediante gotitas de secreciones respiratorias contaminadas que caen en los ojos. Los investigadores también han observado que la sola sustitución de un aminoácido en la posición 226 o 228 del gen de la proteína H, podría cambiar la preferencia de unión al receptor, de tipo aviar AcNeu- α 2-3-Gal por el de tipo humano AcNeu- α 2-6-Gal.

Cambios antigénicos mayores y menores

Los virus de influenza aviar han alcanzado su estabilidad evolutiva en las aves acuáticas que son su reservorio natural ya que en éstas no se presentan cambios genéticos importantes y los virus permanecen estables hasta que pasan a otro hospedero, generalmente un mamífero. Cuando esto sucede, sea en el hombre o en otros animales, el virus exhibe toda su capacidad de cambio mediante los diversos mecanismos ya mencionados, los cambios menores y cambios mayores (*drift* y *shift*).

En los mamíferos «se presentan permanentemente mutaciones en el genoma viral ya que el virus carece de mecanismos reparadores de los errores que comete la ARN polimerasa viral y, en consecuencia, uno o varios nucleótidos pueden ser adicionados, cambiados o eliminados. Estas mutaciones puntuales se van acumulando a través de los ciclos replicativos, hasta que finalmente dan origen a una cepa lo suficientemente distinta de las anteriores, como para provocar una nueva epidemia. Cualquiera de los genes del virus puede sufrir estas mutaciones; sin embargo, la H y la N son más susceptibles de sufrirlas y también son más frecuentes cuando el virus pasa de las aves o de los cerdos a los humanos, pues en estos dos primeros hospederos, el virus se encuentra mejor adaptado que en la especie humana. Este mecanismo, conocido como cambio menor, es la base de la evolución de las epidemias de influenza humanas (figura 4).

El reordenamiento de los genes en el interior de la célula hospedera infectada, es otro de los mecanismos empleados por el virus para adaptarse a sus nuevos hospederos y tal vez es el más importante para la génesis de virus nuevos. Ocurre cuando dos virus, provenientes de dos especies animales distintas, logran infectar simultáneamente la misma célula y en el proceso de replicación viral, los genes se reparten entre la descendencia viral. Pero por fortuna, no todos los virus así producidos pueden multiplicarse eficazmente en la célula ni todos los que lo logran producen virus de importancia médica o veterinaria. Dado que la H y la N son los principales antígenos superficiales del virus y que la respuesta inmune se dirige principalmente contra ellas, una variación en H o N o en ambas, puede significar que la población mundial carezca de anticuerpos contra ese nuevo agente y sea totalmente susceptible. Este segundo mecanismo de

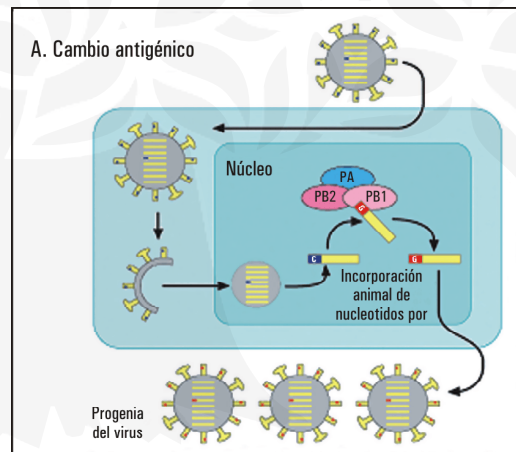


Figura 4. Mecanismos usados por el virus de la influenza para adaptarse a diferentes hospederos. El cambio antigénico ocurre a través de errores durante la replicación de virus de influenza, que no tienen la capacidad de repararse. Estas mutaciones acumulan cambios del genoma viral, que tienen como resultado el reemplazo de las cadenas existentes por una nueva variante antigénica.

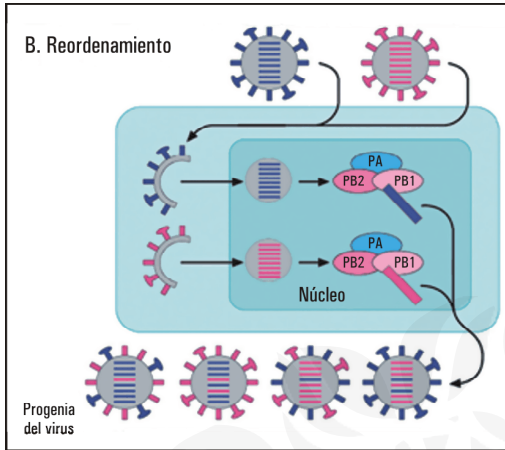


Figura 5. Reordenamiento: intercambio de segmentos de ARN entre dos virus de influenza genotípicamente diferentes que infectan una sola célula, que da como resultado la generación de una nueva cepa o subtipo del virus.

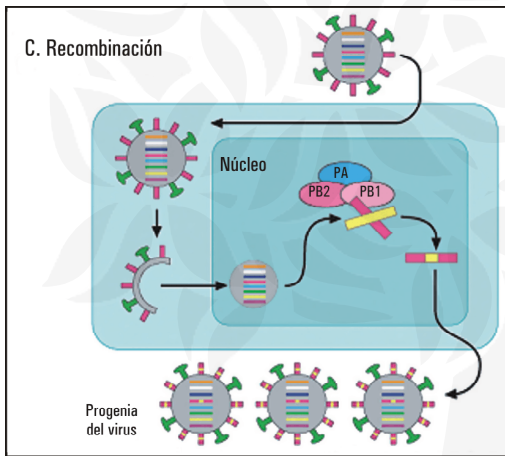


Figura 6. La recombinación ocurre cuando dos fuentes diferentes de ARN contribuyen en la formación de un único segmento de RNA del virus de influenza.

adaptación es el reordenamiento genético o cambio mayor y es la base para la aparición de las pandemias. En 1957 y 1968 se presentaron las últimas pandemias de influenza y diversos estudios han podido demostrar que ambas se derivaron de virus aviares que intercambiaron segmentos con virus humanos. De lograrse la adaptación del virus con transmisión interhumana eficaz, se daría origen a la temida nueva pandemia (figura 5).

Un tercer mecanismo de adaptación, menos frecuente que los dos anteriores, se presenta cuando existe la recombinación genética, es decir, cuando un solo fragmento viral contiene elementos genéticos provenientes de dos fuentes distintas. Ocurre cuando uno de los fragmentos virales se entrecruza con otro durante el ciclo replicativo (figura 6).

La presión inmunológica ejercida por la presencia de anticuerpos contra las cepas que han circulado, es un fenómeno observable en humanos y en animales y obliga a que el virus de influenza mute para evadir la respuesta inmune si quiere sobrevivir. Con base en este hallazgo, algunos investigadores cuestionan si las vacunas contra la influenza están contribuyendo a que esta presión inmune favorezca la aparición de nuevas cepas mediante mutaciones puntuales. Sin embargo, debe recordarse que la vacunación es la medida preventiva más eficiente para el caso de la influenza.

Epidemiología

Los estudios filogenéticos demuestran que existen linajes de genes específicos de especie en el virus de influenza A. Al estudiar el gen de la nucleoproteína en la especie aviar se encuentra que hay sublinajes en Eurasia y América, que estos se relacionan con el patrón migratorio que tienen las aves entre estos continentes y que la migración latitudinal tiene menos importancia que la migración longitudinal en la transmisión de la influenza y en la evolución de los virus. Estos estudios también demuestran que los virus aviares son más estables evolutivamente, mientras que los virus de mamíferos evolucionan permanentemente. Los cambios en los nucleótidos ocurren en ambos tipos de virus pero en las aves no representan modificaciones esenciales en los aminoácidos, mientras que en los virus de mamíferos, los aminoácidos sí

cambian y tienen significado desde el punto de vista evolutivo. Estas modificaciones están representadas más claramente en la presencia de cambios menores en las cepas virales y las consecuencias que ellos pueden tener para una u otra especie.

La forma de influenza aviar «altamente patógena» se reportó hace más de 100 años en Italia y se le llamó también «Peste aviar». Es producida por los virus de influenza A, subtipos H5 y H7, es muy contagiosa y genera alta mortalidad en la especie aviar susceptible. Particularmente los pavos y los pollos son afectados gravemente durante estos brotes. Estos virus aviares tienen características que los hacen resistentes a los agentes físicos y químicos: sobreviven en la carne del pollo crudo refrigerado o congelado y podrían transmitirse por el consumo de alimentos contaminados sin cocinar o mal cocidos. En las heces, el virus sobrevive al menos 35 días a bajas temperaturas (4°C) y a 37°C sobrevive durante 6 días. En el ambiente de la granja avícola, puede permanecer viable durante algunas semanas, mientras que la cocción normal (por encima de 70°C) lo inactiva. En los huevos, el virus puede encontrarse tanto en la superficie de la cáscara, como en su interior, sobre todo en los huevos puestos al inicio de la enfermedad de la gallina. La recomendación de las autoridades sanitarias en el caso de un brote epidémico o de una posible pandemia es que para el consumo, los huevos y alimentos derivados del pollo, deben estar completamente cocidos.

En los últimos 50 a 60 años se han presentado en el mundo unos 21 brotes de influenza aviar altamente patógena, pero han permanecido restringidos geográficamente y no traspasaron la barrera de especie ave-humano. En 1997 (**tabla 1**, publicada por la OMS en enero de 2006) se presentó un brote de influenza aviar H5N1 en la Región Administrativa Especial de Hong Kong (Hong Kong SAR) que afectó por primera vez al hombre, sin intervención de otro huésped intermediario como el cerdo u otro mamífero. En esta oportunidad, 18 personas enfermaron y 6 de ellas murieron. Fue la primera señal de alarma de que algo estaba ocurriendo con estos virus. Finalmente, el brote fue controlado con el sacrificio masivo de toda la población de pollos en las granjas avícolas y en los mercados de aves vivas de la región, en un periodo de tres días.

En el año 2003, luego de un período sin reportes de influenza aviar H5N1, el virus reapareció en varios países asiáticos (Tailandia, Vietnam, Corea) y en el 2004 se extendió a Camboya, China, Indonesia, Laos y Japón. En esta oportunidad, se pudo confirmar que el virus no necesitaba pasar por un hospedero intermediario antes de infectar al humano. El contacto con aves de corral enfermas produjo un total de 44 casos, con 32 muertes. Entre enero y marzo de 2004, en el intento de controlar la epidemia, fueron sacrificados o murieron por la enfermedad más de 100 millones de aves de corral (pollos, patos, pavos). La cepa productora de esta epidemia fue denominada cepa Z y se caracterizó por su patogenicidad en un mayor número de especies animales que las anteriores cepas y por su resistencia a los antivirales amantadina y rimantadina, como resultado de una mutación en la proteína M2 del virus. Otras cepas aisladas en brotes epidémicos también han adquirido esta mutación. Lo anterior indica que esta mutación puede ser fácilmente adquirida y podría representar un serio peligro para el futuro desarrollo de una pandemia.

A partir de marzo de 2004, no se detectaron más casos humanos ni nuevas granjas avícolas afectadas por el virus. Al parecer el virus fue eliminado. Sin embargo, la cría de aves por los campesinos en áreas rurales, a veces muy alejadas de la ciudad, no permitía una vigilancia epidemiológica adecuada y es posible que el virus permaneciera en estos pequeños criaderos que escapaban a la detección. La respuesta se dio hacia julio del mismo año cuando fueron reportados nuevos brotes en varios países de la región. A pesar de que esta vez los brotes fueron

Tabla 1. Infecciones humanas por influenza aviar hasta enero de 2006

Fecha	País/área	Cepa	Casos (muertes)	Síntomas	Fuente de contagio
1969	EUA	H7N7*	1	Respiratorios	Viaje transoceánico
1995	Reino Unido	H7N7	1	Conjuntivitis	Patos domésticos en contacto con aves migratorias
1997	Hong Kong	H5N1**	18 (6)	Respiratorios/ neumonía	Aves de corral
1998	China (Guang-dong)	H9N2	5	Sin datos	desconocida
1999	Hong Kong	H9N2**	2	Respiratorios	Aves de corral; desconocida
2003 (febrero)	Hong Kong	H5N1**	2 (1)	Respiratorios	desconocida
2003 (marzo)	Holanda	H7N7**	89 (1)	Conjuntivitis; neumonía, insuficiencia respiratoria en el caso fatal	Aves de corral
2003 (diciembre)	Hong Kong	H9N2	1	Respiratorios	Desconocida
2003	Nueva York	H7N2	1	Respiratorios	Desconocida
2003	Vietnam	H5N1**	3 (3)	Respiratorios	Aves de corral
2004	Vietnam	H5N1**	29 (20)	Respiratorios	Aves de corral
2004	Tailandia	H5N1**	17 (12)	Respiratorios	Aves de corral
2004	Canadá	H7N3**	2	Conjuntivitis	Aves de corral
2005	Vietnam	H5N1**	61 (19)	Respiratorios	Aves de corral
2005	Tailandia	H5N1**	5 (2)	Respiratorios	Aves de corral
2005	China	H5N1**	7(3)	Respiratorios	Aves de corral
2005	Camboya	H5N1**	4 (4)	Respiratorios	Aves de corral
2005	Indonesia	H5N1**	16 (11)	Respiratorios	Aves de corral
2006	Turquía	H5N1**	3 (3)	Respiratorios	Aves de corral

** Cepa altamente patógena para las aves de corral

Posteriormente se han notificado otros brotes en Egipto, Djibouti y Tailandia

Traducida y adaptada de la referencia 14 y de Avian influenza - assessing the pandemic threat. WHO, http://www.who.int/csr/disease/influenza/WHO_CDS_2005_29/en/, accessed 06 January 2006.

más pequeños, tanto en área geográfica como en número de aves afectadas, aparecieron nuevos casos humanos. Entre agosto y octubre de 2004 se presentaron 9 casos nuevos en Tailandia y en Vietnam, 8 de los cuales fueron fatales. En septiembre se informó por primera vez la posible transmisión interhumana del virus, algo que se sospechaba que podría ocurrir pero se esperaba que no sucediera por las implicaciones que esto tiene al iniciar una pandemia. Sin embargo, hasta la fecha el virus parece no haber logrado efectuar eficazmente esta transmisión, aunque se han reportado otros posibles casos de transmisión interhumana.

Los estudios epidemiológicos y de laboratorio sugieren que el virus H5N1 es ahora endémico en Asia, por lo que el riesgo de infección al humano permanece, al igual que la posibilidad de un reordenamiento con un virus humano que le conceda la propiedad de transmitirse efec-

tivamente e iniciar una pandemia. También se ha podido comprobar que el virus continúa ampliando el rango de hospederos mamíferos ya que se reportó un brote de alta mortalidad en tigres y leopardos, especies que no se consideraban susceptibles al virus. Los gatos domésticos también han sido afectados por este virus y podrían desempeñar un papel importante en la transmisión al humano. Un mecanismo alternativo por medio del cual el virus puede adquirir la capacidad de transmitirse eficientemente es la mutación adaptativa, la cual requiere pasos que permiten que las mutaciones vayan cambiando gradualmente el virus hasta infectar al humano eficientemente y transmitirse con mayor facilidad. Pero mientras existan casos en animales, habrá la posibilidad de que el hombre adquiera este virus y mayores probabilidades tendrá el virus de mutar para adaptarse a sus nuevos hospederos.

La infección en las aves

La forma grave de la influenza aviar figura en la lista A de enfermedades de la Organización Internacional de Epizootias (OIE) como una de las más temidas. El temor se basa en los efectos devastadores de la enfermedad, resultantes en grandes pérdidas económicas y restricciones comerciales en las zonas afectadas.

La transmisión está relacionada con la secreción de altas concentraciones de virus en las heces y en las secreciones respiratorias de las aves infectadas. La introducción del virus en las granjas avícolas puede ser en forma primaria o secundaria. La primaria se debe a las aves silvestres y, en particular, a las aves acuáticas, playeras y gaviotas pero no implica necesariamente el contacto directo con ellas, pues los virus pueden ser llevados a una zona por aves acuáticas infectadas y luego son introducidos en las aves de corral por una serie de mecanismos que permiten el traslado de los virus en las heces y en las secreciones respiratorias. Las aguas potables de superficie también pueden ser contaminadas con virus de influenza aviar y se convierten en fuentes de transmisión.

La forma de introducción secundaria se debe principalmente al traslado mecánico de heces contaminadas, las cuales contienen con frecuencia elevadas concentraciones del virus, que puede sobrevivir durante largos periodos de tiempo. Las aves y otros animales que no son susceptibles pueden contaminarse y transportar el virus a cierta distancia. El agua y otros alimentos contaminados también pueden ser fuente de infección, pero el hombre es el principal factor de introducción secundaria, al menos para las aves de corral, mediante el desplazamiento y las acciones de las personas encargadas de cuidar las aves dentro y fuera de las explotaciones avícolas. Se calcula que 1 gramo de heces contaminadas puede infectar a 1 millón de aves (ver **figura 7**).

La influenza aviar producida por cepas altamente patógenas, como la H5N1, se caracteriza por un comienzo abrupto de enfermedad grave, de corta duración y con una mortalidad cercana al 100% en las especies vulnerables. El periodo de incubación es de 3 a 5 días (máximo 21 días, dependiendo de las características del virus, el tamaño del inóculo, la especie y la edad del ave), al cabo del cual aparece, en las gallinas y los pavos, depresión intensa, inapetencia, tos y estornudo, secreción nasal, diarrea, incoordinación motora, marcada disminución de la producción de huevos, postura de huevos deformes o con cáscara blanda, edema facial, tumefacción y cianosis de las crestas y barbillas, deshidratación, hemorragias petequiales en las superficies de las membranas mucosas y, con frecuencia, muerte súbita. Los patos infectados generalmente no presentan síntomas, pero excretan el virus activamente.

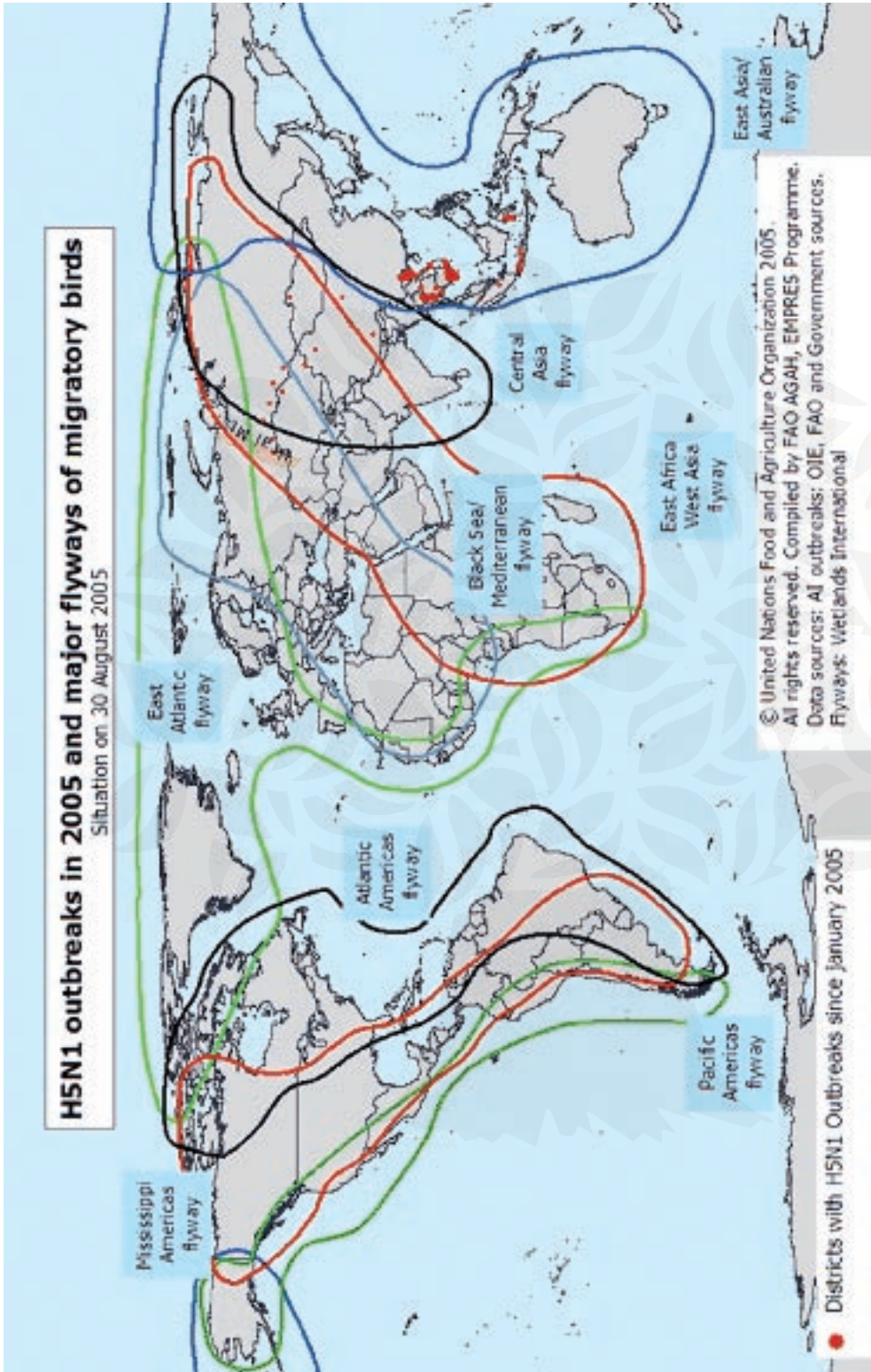


Figura 7. Brotes de H5N1 para el año 2005 y rutas de vuelo principales de las aves migratorias. 30 de agosto de 2005. Tomado de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Fuentes: Brotes de influenza aviar según: la OIE, la FAO y fuentes gubernamentales. Rutas de vuelo: Wetlands International.

El diagnóstico diferencial se plantea principalmente con el Cólera aviar agudo, la Enfermedad de Newcastle y otras enfermedades respiratorias, especialmente la Laringotraqueítis infecciosa.

No existe un tratamiento antiviral útil para las aves. La profilaxis sanitaria consiste en impedir el contacto entre las aves de corral y las salvajes, especialmente las acuáticas; evitar la introducción de aves con situación sanitaria desconocida en las explotaciones avícolas; controlar los desplazamientos humanos; utilizar métodos adecuados de limpieza y desinfección, y la crianza de un grupo de edad por explotación. En los focos epizooticos, se aconseja el sacrificio de todas las aves, la eliminación de las canales y todos los productos animales, limpieza, desinfección y esperar al menos 21 días antes de la repoblación de la explotación. No se deben matar las aves silvestres de la región.

La infección en humanos

La infección humana por el virus de influenza A H5N1 puede considerarse relativamente rara, a pesar de que la cepa está circulando en el mundo desde hace más de una década. Sin embargo, como se anotó, en los últimos años la cepa ha aumentado su virulencia, ha expandido su rango de acción y posiblemente su capacidad de adaptación a la especie humana.

Las cepas de influenza A aviar fueron identificadas hace poco tiempo como causantes de enfermedad humana, en la mayoría de los casos como una infección leve. Como muestra la tabla 1, en 1996 se aisló un virus aviar H7 en una mujer con conjuntivitis. En 1999 se aisló la cepa H9N2 en dos niños de Hong Kong que presentaron síntomas respiratorios leves y, 4 años después, durante un brote de influenza aviar H7N7 ocurrido en Holanda, resultaron afectadas 89 personas, de las cuales solamente 7 presentaron síntomas leves de influenza, pero hubo un caso fatal por neumonía.

La única cepa de influenza aviar que ha causado enfermedad grave en forma repetida en la especie humana es la A H5N1, diagnosticada por primera vez en humanos en 1997. En esta oportunidad, el virus produjo la muerte de 6 de 18 personas infectadas, en asociación epidemiológica con un brote que se presentó en mercados de aves vivas. El riesgo de infección fue mayor en las personas que tuvieron contacto con las aves enfermas o con superficies muy contaminadas con las secreciones de estos animales. El riesgo de exposición también fue alto en las prácticas relacionadas con el sacrificio, el descuartizamiento y la preparación de las aves para su cocción.

Se acepta que la infección se transmite por inhalación de gotas y aerosoles o por contacto directo y, tal vez, por contacto indirecto mediante fomites; puede darse principalmente de aves a humanos y, posiblemente del ambiente al humano, al beber agua contaminada, al nadar en fuentes acuáticas contaminadas o por inoculación directa intranasal o conjuntival. La transmisión interhumana se ha sugerido en algunos brotes hogareños y en un posible caso de transmisión de un niño a su madre, pero aún no se ha demostrado en forma fehaciente.

El espectro clínico de la infección por influenza aviar H5N1 en humanos se basa en descripciones de pacientes hospitalizados. La frecuencia de enfermedad asintomática, subclínica, leve o atípica (encefalitis o gastroenteritis) no se ha determinado, pero se han descrito algunos casos que indican que estas formas clínicas ocurren pero no son frecuentes. La mayoría de los casos se presentan en niños o adultos previamente sanos.

El período de incubación parece ser mayor que el de la influenza A humana estacional. En 1997 la mayoría de los casos ocurría 2 a 4 días después de la exposición pero los informes recientes determinan un rango mayor, hasta de 8 días. En los brotes hogareños el lapso entre los casos generalmente es de 2 a 5 días, con un límite superior entre 6 y 17 días, posiblemente debido a la exposición a fuentes animales o ambientales desconocidas.

En la mayoría de los casos la infección debuta con fiebre, casi siempre mayor de 38°C, y manifestaciones del tracto respiratorio inferior, mientras que los síntomas del tracto respiratorio superior y la conjuntivitis son raros, a diferencia de la influenza A humana clásica. Son frecuentes los síntomas gastrointestinales (diarrea, vómito, dolor abdominal), así como el dolor pleural. Algunos pacientes presentan gingivorragia o epistaxis. El compromiso del tracto respiratorio inferior generalmente está presente en el momento de la consulta inicial. La disnea se desarrolla en aproximadamente 5 días, contados a partir del comienzo de los síntomas (rango de 1 a 16 días) y se acompaña de taquipnea y crépitos inspiratorios. El esputo es variable en cantidad y a veces es sanguinolento. Casi todos los pacientes sintomáticos desarrollan neumonía en un plazo de 7 días en promedio (rango de 3 a 17 días). Las radiografías pulmonares demuestran infiltrados intersticiales y segmentarios o consolidación neumónica lobar, con broncograma aéreo. Rara vez se encuentra derrame pleural. A diferencia de la influenza A humana, la neumonía presente en la influenza aviar generalmente es producida por el mismo virus y rara vez se debe a infección bacteriana agregada.

El curso clínico evoluciona en muchos casos hacia un síndrome de dificultad respiratoria del adulto (SDRA), consistente en falla respiratoria e infiltrados pulmonares difusos con apariencia de «vidrio esmerilado». En Tailandia este síndrome ocurrió en promedio a los 6 días (rango de 4 a 13 días). Con frecuencia se presentan complicaciones como falla orgánica múltiple, insuficiencia renal aguda, miocardiopatía dilatada y taquicardia supraventricular. Otras complicaciones consisten en neumonía asociada a ventiladores, hemorragia pulmonar, neumotórax, síndrome séptico sin bacteriemia evidente, pancitopenia y síndrome de Reye.

Los hallazgos de laboratorio consisten en leucopenia, usualmente con linfopenia, trombocitopenia leve o moderada, elevación moderada o leve de las aminotransferasas, aumento de la creatinina e hiperglicemia.

La tasa de mortalidad es alta en pacientes hospitalizados aunque, si se consideran todos los enfermos, es mucho menor. En 1997 la mortalidad fue más alta en los pacientes mayores de 13 años de edad, pero en brotes recientes ocurrió principalmente en lactantes y niños. El deceso ocurre en promedio al cabo de 10 días del comienzo de la fiebre, con un rango de 6 a 30 días. La mayoría de las defunciones se deben a falla respiratoria.

Hasta octubre de 2006, la OMS ha recibido la notificación de 253 casos confirmados de influenza aviar H5N1, desde 2003, con una mortalidad del 58,5% (ver **tabla 2**).

La distribución etaria de los casos hasta mayo 30 de 2006, se muestra en la **figura 8**.

La información acerca de los factores de riesgo de enfermedad grave y evolución fatal es controversial. En los brotes sucedidos en Hong Kong en 1997, estos factores incluyeron edad avanzada, tardanza en la hospitalización, días de estancia hospitalaria, afección del tracto respiratorio inferior y leucopenia o linfopenia al momento de la admisión al hospital. Por el contrario, los brotes recientes han causado tasas elevadas de letalidad en los lactantes y niños pequeños, aunque el número de pacientes analizados es escaso para determinar si factores como

Tabla 2. Casos confirmados de influenza aviar H5N1, reportados a la Organización Mundial de la Salud hasta el 11 de octubre de 2006

País	2003		2004		2005		2006		Total	
	Casos	Muertes	Casos	Muertes	Casos	Muertes	Casos	Muertes	Casos	Muertes
Azerbaiján	0	0	0	0	0	0	8	5	8	5
Camboya	0	0	0	0	4	4	2	2	6	6
China	1	1	0	0	8	5	12	8	21	14
Dyibuti	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
Egipto	0	0	0	0	9	0	14	8	15	6
Indonesia	0	0	0	0	19	12	50	40	69	52
Irak	0	0	0	0	0	0	3	2	3	2
Tailandia	0	0	17	12	5	2	3	3	25	17
Turquía	9	0	0	0	0	0	12	4	12	4
Vietnam	3	3	29	20	61	19	0	0	93	42
Total	4	4	46	32	97	42	105	70	253	148

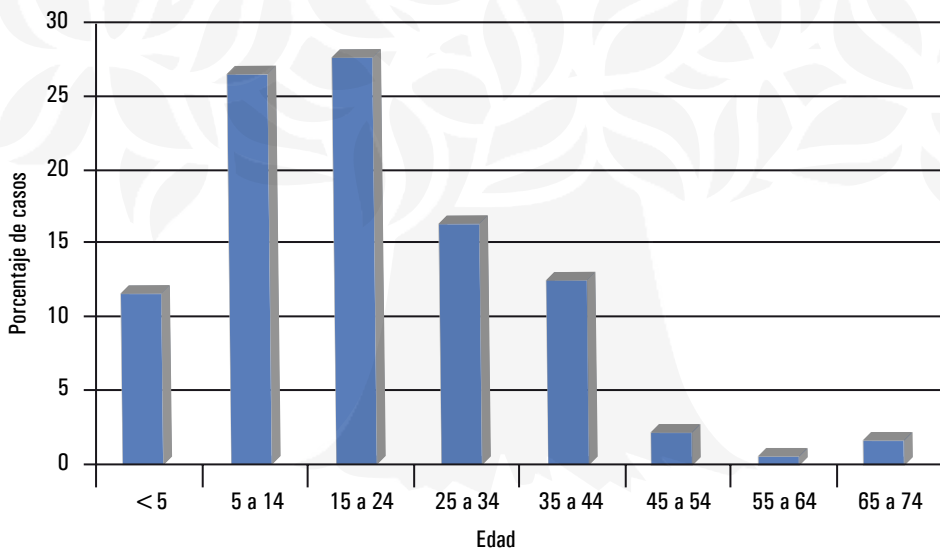


Figura 8. Distribución etaria de los casos de influenza A H5N1. Mayo 30 de 2006. Análisis de los datos demográficos publicados por la OMS, que muestra la siguiente distribución etaria de los casos humanos de influenza H5N1 (n=176): 50% de los casos tuvieron 17 años o menos; 75% de los casos tuvieron 29 años o menos y 90% de los casos tuvieron 37 años o menos. La mayoría de los pacientes nacieron después de 1968. Modificada de Influenza Report 2006. Paris, Flying Publisher. Disponible en www.influenzaReport.com.

el tiempo transcurrido entre el comienzo de los síntomas y la hospitalización o la virulencia de la cepa son responsables de esta diferencia. Según Webster, a medida que evoluciona la cepa H5N1, las manifestaciones clínicas de la infección en humanos pueden ser diferentes. Ninguno de los pacientes con influenza aviar H5N1 grave reportados en Hong Kong y Vietnam tenía indicios de neumonía bacteriana secundaria, lo cual indica que la neumonía era de origen netamente viral, a diferencia de la que ocurre en la influenza A humana clásica y está de acuerdo con la hipótesis de que la gravedad de la pandemia de 1918 se debió a una verdadera «tormenta de citoquinas», desencadenada por la infección viral.

Las infecciones en Azerbaijón fueron los primeros casos documentados de infección humana por contacto con aves salvajes. Se cree que la transmisión ocurrió al desplumar cadáveres de gansos pero no se sabe si esto sucedió dentro o fuera de los hogares, si hubo exposición a las carcasas antes o después de desplumarlas o si hubo consumo de las mismas. Los investigadores piensan que en Turquía y en Irak los casos humanos se debieron a contacto con aves de corral, al descuartizarlas y prepararlas para consumo. Otros factores influyentes fueron el cuidado de aves enfermas y el juego con partes de estos animales.

La tasa de infección hombre:mujer fue de 4:5 en Turquía, 2:6 Azerbaijón y 1:1 en Irak. La edad promedio en Turquía fue de 9,5 años, mientras que en Azerbaijón fue de 16,5 y en Irak de 27. El promedio etario bajo en Turquía posiblemente se debió al uso de pollos como mascotas y a que el descuartizamiento de las aves y la recolección de plumas de gansos salvajes, son labores que habitualmente se confían a los adolescentes. Sin embargo, no se sabe si los niños y los adolescentes son más susceptibles a la influenza aviar.

En varios países (Vietnam, Turquía, Irak, Azerbaijón e Indonesia), han ocurrido casos intrafamiliares de influenza aviar, probablemente asociados con fuentes comunes de exposición. El brote afgano es el más complejo, con respecto a la transmisión, debido a que las familias afectadas tuvieron contacto con aves de corral sanas y negaron contacto con aves salvajes. Es posible que negaran este último contacto por temor al castigo ya que en ese país es ilegal la crianza de gansos.

Aunque se acepta que los brotes intrafamiliares se deben por lo general a exposición a una fuente común, no puede descartarse la transmisión interhumana. La recomendación actual es que los miembros de la familia reciban profilaxis lo más pronto posible a partir de la identificación del caso índice.

A pesar de que se han identificado muchas cepas del virus H5N1, las halladas en humanos hasta el presente son 100% aviarias. El grupo de Brown demostró que los aislamientos de H5N1 encontrados en humanos y en animales en Europa y en el Medio Oriente están relacionados filogenéticamente y se derivaron de los aislamientos asiáticos iniciales. El grupo de Kida informó que cualquier subtipo de influenza aviar puede generar reasociaciones en los cerdos y convertirse en una futura cepa pandémica, lo cual obliga a mantener una estrecha vigilancia de las cepas humanas y porcinas.

En la especie humana, la influenza adquirida de las aves de corral no se diferencia de la adquirida de las aves salvajes, pero el riesgo de transmisión es mayor ante el contacto con las primeras, lo cual significa que el peligro de reasociación entre los virus de las aves domésticas y los virus humanos es mayor y, por ende, la posibilidad de adaptación de la nueva cepa a los humanos.

De acuerdo con la OMS, las evidencias existentes apuntan a que la principal fuente de infección humana con influenza aviar H5N1 es el contacto estrecho con aves de corral enfermas o

muertas. El Centro Europeo para el Control de Enfermedades clasifica el riesgo de la siguiente manera:

- **Grupo 1** (riesgo bajo pero real). Personas en contacto estrecho e intenso con aves de corral domésticas enfermas con influenza aviar H5N1, con sus excretas o con aves salvajes que puedan llevar el virus. En este caso, los niños tienen mayor riesgo que los adultos probablemente por sus comportamientos más que por la susceptibilidad. El mayor riesgo lo tienen quienes viven en la misma habitación donde hay casos humanos de influenza aviar H5N1.
- **Grupo 2**. (riesgo teórico; requiere precauciones). Personas de los sitios donde el virus de influenza aviar H5N1 puede estar presente: trabajadores de la salud, veterinarios, granjeros, recolectores e individuos en estrecho contacto con aves salvajes infectadas (por ejemplo, cazadores y ornitólogos), personal de granjas avícolas industrializadas, personas que manipulan aguas negras que pueden estar contaminadas con influenza aviar H5N1.

Diagnóstico de laboratorio

En el diagnóstico de la influenza hay que considerar aspectos epidemiológicos, clínicos y de laboratorio. Durante una epidemia de influenza, la presencia de un caso con síntomas similares a los que se presentan en la población, tiene gran probabilidad de tratarse de influenza. Además, el contacto con personas con influenza sugiere el diagnóstico. Sin embargo, otras infecciones pueden simular esta enfermedad y, por tanto, el médico puede equivocarse en su diagnóstico. Es importante que los casos esporádicos sean confirmados por el laboratorio porque estos pueden representar el primer caso de una epidemia. Es posible que el resultado no represente ningún beneficio para el paciente, pero constituye una señal importante de lo que puede suceder en la comunidad poco después.

El diagnóstico de influenza basa en el aislamiento del virus, en la detección de antígenos virales en las secreciones respiratorias de los pacientes, en la demostración del alza de anticuerpos en sueros pareados o por medio de métodos moleculares que permiten detectar el genoma viral, o alguna de sus partes, generalmente la proteína H.

La recolección de las muestras para el diagnóstico de influenza es crucial a la hora de obtener resultados confiables. Como el principal órgano de choque es el tracto respiratorio, sus secreciones y tejidos se constituyen en las muestras básicas para lograr un diagnóstico. Aunque es posible encontrar el virus en lugares diferentes como el cerebro y el corazón, el virus no se aísla rutinariamente de estos órganos. Por estudios sobre la patogénesis viral se conoce que el pico de excreción del virus ocurre entre los 2 y 3 días después del inicio de la enfermedad, pero su detección es posible hasta los 5 días. Por esta razón es importante que las muestras destinadas al aislamiento y a la detección de antígenos virales sean recolectadas dentro de este período. Se aconseja extraer la muestra de sangre de fase aguda en los primeros días de la enfermedad, y la de fase convaleciente unas 2 o 3 semanas después de la primera, para los estudios serológicos. Tan importante es la primera muestra como la segunda, pues se requieren ambas para comparar los títulos de anticuerpos, y decidir si se trata de una infección reciente o pasada, e identificar la cepa que probablemente causó la enfermedad. En algunas pruebas serológicas como los ensayos inmunoenzimáticos, es posible detectar la IgM específica en una sola muestra de suero del paciente.

Simultáneamente con los anteriores procedimientos, se ordenan otros exámenes paraclínicos como el hemoleucograma completo y la velocidad de sedimentación globular. En una influenza

no complicada, el recuento leucocitario generalmente es normal, pero una alteración puede sugerir la presencia de complicaciones como la neumonía.

Aislamiento viral

Las muestras ideales para el aislamiento viral son el aspirado nasofaríngeo, el hisopado faríngeo o los lavados nasales. A veces se emplean otras muestras como el esputo y el líquido obtenido mediante lavado broncoalveolar, pero estos no son de uso corriente. Existen dos sistemas para lograr el aislamiento del virus de influenza: el embrión de pollo y los cultivos celulares. Los huevos de gallina embrionados o los embriones de pollo fueron los primeros en utilizarse para el diagnóstico de la influenza. Por la dificultad para conseguir los huevos embrionados, actualmente se emplean sobre todo en investigación o con el fin de recolectar y multiplicar cepas del virus. La edad óptima del embrión de pollo es de 9 a 12 días y puede inocularse por dos vías: amniótica y alantoica. En el aislamiento primario, los virus de influenza humana, deben inocularse en la cavidad amniótica para su mejor adaptación y luego debe hacerse un pase ciego a la cavidad alantoica para cosechar una mayor cantidad de virus. Los embriones de pollo son incubados entre 33 y 35°C durante 3 días, al término de los cuales se extrae el líquido amniótico o alantoico según el caso. Los virus se replican en las células de la membrana amniótica o alantoica y son liberados al líquido correspondiente. El líquido amniótico se somete a la prueba por hemaglutinación con el fin de detectar si la HA del virus está presente y, si es negativa, se hace entonces el pasaje a la cavidad alantoica en otra serie de embriones de pollo. Si este líquido es nuevamente negativo mediante hemaglutinación, se reporta como negativo. Entre los eritrocitos que se emplean para la hemaglutinación se pueden utilizar los de cobayo, pollo y humanos tipo O, entre otros.

Ante la sospecha de influenza aviar en el hombre, se toman las mismas muestras que en caso de una influenza estacional. En los animales, especialmente en las aves, se pueden recoger muestras de materia fecal o se hace hisopado de la cloaca, además de las muestras de tracto respiratorio. En caso de autopsias, pueden ser procesados varios tejidos para aislamiento viral, como corazón, cerebro, bazo y pulmones. Las muestras se deben transportar en un medio adecuado, adicionado de antibióticos y refrigeradas, en el caso de practicar inmunofluorescencia (IFD o IFI), o congeladas si se va a intentar aislamiento. El transporte debe hacerse lo más pronto posible.

Los cultivos celulares derivados de animales han sido usados para aislamiento viral, pero su sensibilidad a los virus varía ampliamente. Los más sensibles son los derivados del riñón de mono *rhesus*. El cultivo requiere condiciones de temperatura y componentes del medio para que el virus produzca su efecto en las células. Comúnmente se emplea la adición de tripsina en el medio de cultivo y no se le agrega suero bovino fetal. La tripsina hace la función de las proteasas celulares y de la misma tripsina *in vivo*, consistente en el clivaje de la HA para que el virus pueda infectar la célula. Si se agrega suero al medio de cultivo, se inactiva la tripsina. Los virus de influenza no producen efecto citopatógeno en la mayoría de los cultivos celulares, por lo que es necesario recurrir a métodos indirectos de detección. La línea celular más utilizada en el diagnóstico de influenza es la MDCK (por su nombre en inglés: *Madin-Darby canine kidney*) derivada de riñón de perro. Para la detección del virus en el cultivo, puede usarse la prueba de hemaglutinación con el líquido sobrenadante del cultivo, ya que algunos virus son liberados durante la multiplicación o la hemadsorción, lo que permite detectar los virus y la HA en la superficie de las células del cultivo. Si el virus está presente, ocurrirá aglutinación de los eritrocitos en el primer caso y, en el segundo, los eritrocitos que se agregan al cultivo se pegarán firmemente a la monocapa celular, de forma que no se desprenderán

durante el lavado posterior. Mediante la prueba de la inmunofluorescencia en las células de los cultivos es posible detectar e identificar los virus presentes. También estos virus pueden ser identificados mediante otras pruebas como la inhibición de la hemaglutinación o la inhibición de la hemadsorción, utilizando anticuerpos específicos de las diferentes cepas probables. La identificación definitiva se hace en laboratorios de referencia.

Serología

En muchas oportunidades, los virus no pueden ser aislados de un paciente y por tanto es necesario recurrir a otros métodos diagnósticos, como la serología. Como se anotó, son necesarias dos muestras de suero, recolectadas una en la fase aguda de la enfermedad y otra durante la convalecencia. El diagnóstico en estas condiciones es retrospectivo y aunque no tenga mucha incidencia para el tratamiento del paciente, pues probablemente ya se habrá curado de su enfermedad, desde el punto de vista epidemiológico y de salud pública, puede tener un significado importante ya que puede tratarse de un caso índice.

Por medio de la fijación del complemento es posible identificar el tipo viral (A, B o C) luego de aislarlo en cultivos celulares o en embriones de pollo, pero esta prueba también se emplea para determinar los niveles de anticuerpos de un paciente. Una prueba más específica y sencilla, que permite además saber contra cuál cepa están dirigidos los anticuerpos del paciente, es la inhibición de la hemaglutinación (IH), la cual también proporciona información acerca de la inmunidad de la persona contra las diferentes cepas de influenza, teniendo en cuenta que los anticuerpos protectores son los inhibidores de la hemaglutinación (dirigidos contra la HA viral). En esta prueba, los sueros pareados del paciente (de fase aguda y convaleciente) son enfrentados simultáneamente contra varios de los virus de reciente circulación. Los anticuerpos bloquean el virus, impidiendo que se pegue a los eritrocitos. Así, la mayor dilución de anticuerpos capaz de bloquear o inhibir la hemaglutinación corresponderá al título de anticuerpos de ese suero. Si las muestras se recolectaron en el período adecuado de la enfermedad, se supone que en la fase aguda no habrá anticuerpos o si los hay, será en títulos bajos; en la convalecencia, los anticuerpos deben haber aumentado en título por lo menos cuatro veces o más para que el resultado sea indicativo de infección reciente. Este aumento se denomina «alza cuádruple» de anticuerpos. Aquella cepa viral contra la cual se encuentre el alza cuádruple o mayor de anticuerpos será la que probablemente está ocasionando la enfermedad. Los sueros empleados en esta prueba necesitan ser tratados previamente para destruir inhibidores inespecíficos presentes en el suero y que pueden interferir con la reacción; también es preciso eliminar las aglutininas inespecíficas antes de la prueba.

La prueba de ELISA es más sensible y específica que las anteriores y están disponibles varios estuches comerciales para detección de virus de influenza y sus anticuerpos.

Otros métodos empleados en el diagnóstico serológico de la influenza son: hemólisis radial simple, neutralización e inhibición de la neuraminidasa. Si solo se dispone de una muestra de suero del paciente, puede buscarse la inmunoglobulina M específica, la cual también permite diagnosticar la infección aguda.

Pruebas de diagnóstico rápido

Desde hace unos años se dispone de pruebas de diagnóstico rápido, aplicables durante la consulta médica o en el laboratorio, con resultados en pocos minutos o algunas horas. Una de ellas es la inmunofluorescencia, especialmente útil para la detección de antígenos virales en las células de la nasofaringe. Con la ayuda de anticuerpos monoclonales es posible detectar

las células infectadas y a la vez, saber si se trata de un virus tipo A o tipo B. Sin embargo, esta prueba no es 100% específica ni sensible y pueden ocurrir resultados falsos negativos, principalmente. La calidad de la muestra es fundamental, pues debe contener un número adecuado de células y éstas deben estar en buen estado. Existen estuches de reactivos que permiten detectar simultáneamente antígenos de varios de los virus respiratorios más frecuentes que producen cuadros clínicos similares. Esta prueba requiere, además de una excelente muestra, equipo costoso y personal entrenado.

Varios de los métodos rápidos se basan en reacciones inmunoenzimáticas tipo ELISA y algunos distinguen entre virus tipos A y B. La utilidad de estos métodos rápidos debe considerarse a la luz de la epidemiología local y las manifestaciones clínicas, pues los resultados estarán influenciados por la presencia o la ausencia de epidemias o brotes. Es posible que una prueba positiva en un caso aislado, en un momento en el que no hay circulación de influenza en la comunidad, se trate de un falso positivo y será necesario confirmarlo en un laboratorio de referencia. Si la prueba es positiva, en la comunidad vienen presentándose casos de influenza y las manifestaciones clínicas son compatibles, la probabilidad de que se trate de influenza es alta.

Diagnóstico molecular

El avance en el diagnóstico mediante el uso de las herramientas moleculares es notorio. Para la influenza se utiliza la detección del ARN mediante sondas de ácido desoxirribonucleico (ADN) en las hibridaciones moleculares; estas sondas pueden estar marcadas con radioisótopos o pueden ser biotiniladas. También puede usarse la reacción en cadena de la polimerasa en donde las secuencias de ARN del virus son transcritas en un ADN copia (cADN) con la ayuda de la transcriptasa reversa y luego este ADN puede ser amplificado usando cebadores o «primers» específicos. La secuencia o fragmento amplificado es luego detectada en una electroforesis en gel. La reacción en cadena de la polimerasa tiene una gran sensibilidad y esto le permite la detección de muy pequeñas cantidades de ARN. Su principal inconveniente es la contaminación con ADN. La prueba puede adaptarse a la detección de un tipo viral o de una cepa viral según los cebadores que se empleen. Esta prueba ha reemplazado en gran parte el cultivo viral, pero tiene la desventaja de que no permite disponer del virus para otros procedimientos o remitirlo a los laboratorios de referencia internacionales, para los programas de vigilancia epidemiológica.

Tratamiento y vacunación

El tratamiento de la influenza aviar en humanos es principalmente sintomático y busca atender las eventuales complicaciones que presente el enfermo.

Los medicamentos antivirales incluyen los inhibidores de la proteína M2 (amantadina y rimantadina) y los inhibidores de la neuraminidasa (oseltamivir y zanamivir). El virus H5N1 es resistente *in vitro* a los primeros. Luego del tratamiento con inhibidores de neuraminidasa se generan variantes virales resistentes en el 4 al 18% de los niños y en menos del 1% de los adultos. La resistencia al oseltamivir radica en una sustitución H274Y en el gen de la neuraminidasa. La resistencia al zanamivir es menos frecuente ya que el virus tiene una tendencia menor a desarrollar mutaciones contra éste. Aunque su administración por vía inhalatoria dificulta su uso en niños pequeños y en pacientes con alteraciones mentales o de coordinación, algunos expertos consideran que el zanamivir debe hacer parte del arsenal terapéutico contra el virus de la influenza aviar H5N1.

La OMS recomendó hace poco el almacenamiento de oseltamivir, en preparación para la pandemia. Esto hizo que los países ricos agotaran rápidamente las reservas del medicamento y que los países en desarrollo quedaran al margen de este recurso.

Recientemente se realizó en Israel un estudio de costo/beneficio en relación con el almacenamiento y la estrategia óptima para el uso de oseltamivir. Se tuvieron en cuenta el número de posibles episodios de influenza, las consultas al médico, el número de hospitalizaciones y de muertes, los costos para el sistema de salud y para la economía (incluyendo el valor de los días laborales perdidos pero no el valor potencial de las vidas perdidas). Con base en lo anterior se propusieron 3 estrategias para el uso de oseltamivir durante una pandemia: uso terapéutico, profilaxis pre-exposición a largo plazo y profilaxis a corto plazo para los contactos estrechos con los casos índices en tratamiento. Los dos primeros usos se refieren a la población general o solamente para las personas con alto riesgo de complicaciones. El resultado económico de cada estrategia fue comparado con el resultado de no hacer intervención alguna. Se calculó el costo del almacenamiento del medicamento y las proporciones costo-beneficio. La estrategia más favorable fue la de administrar el medicamento solamente como una medida terapéutica o como profilaxis a corto plazo («profilaxis selectiva»). El objetivo de las estrategias selectivas es hacer mínimo el uso de drogas, maximizando su efecto. Por tanto, en los países pobres, la profilaxis selectiva puede ser importante para ahorrar recursos.

En los países desarrollados, el uso de medicamentos antivirales depende de la cantidad almacenada. Por ejemplo, el Ministerio de Salud Alemán hizo recientemente la siguiente recomendación para el uso del oseltamivir en su país (**tabla 3**).

Tabla 3. Recomendaciones del Ministerio de Salud de Alemania para el uso de medicamentos antivirales contra influenza.

1. Cuando llegue la pandemia al país		
Tratar El caso índice ^a	Suministrar profilaxis a: los familiares, los convivientes y otros contactos del caso índice. Profilaxis post exposición	
2. En caso de epidemia declarada o de introducción amplia de cepa pandémica		
- Almacenamiento escaso de inhibidores de neuraminidasa	Tratar: grupos de riesgo ^b , profesionales ^c , y (si es necesario) personas en grupos pandémicos específicos ^a ; personas por demás sanas: hospitalizadas por complicaciones	
- Inhibidores de neuraminidasa ampliamente disponibles	Tratar: pacientes con síntomas compatibles con influenza.	Suministrar profilaxis a: pacientes ^d y grupos de riesgo, profesionales y, si es necesario, personas en grupos de riesgo pandémico específicos ^e
<p>a. Lo más pronto posible después de la aparición de los primeros síntomas; si el tratamiento no se inicia en las primeras 48 horas, puede que no sea eficaz</p> <p>b. Los pacientes con trastornos graves respiratorios, pulmonares o cardiovasculares y los diabéticos insulina dependientes, si se infectan con la cepa pandémica tienen riesgo alto de descompensación cardiaca</p> <p>c. Todas las personas responsables del diagnóstico, el tratamiento y el cuidado de los enfermos de influenza, o del manejo de los recursos logísticos necesarios</p> <p>d. De acuerdo con consideraciones de los médicos tratantes de los casos individuales</p> <p>e. Después de vacunación y mientras el virus esté circulando</p>		

Por ahora se utiliza el oseltamivir para la prevención y el tratamiento de la influenza aviar producida por el subtipo A H5N1, pero no se conoce su eficacia real contra este subtipo ni contra cepas potencialmente emergentes.

Las vacunas se consideran la primera línea de defensa para reducir la morbilidad y la mortalidad que acompañan invariablemente a una pandemia de influenza. Sin embargo, no existen vacunas disponibles comercialmente para proteger la especie humana contra este virus, aunque hay estudios en proceso. Las vacunas habituales contra la influenza humana (combinación de dos cepas de influenza A y una de influenza B, circulantes) no protegen contra el subtipo H5N1 ni contra una eventual cepa nueva.

La fabricación de las vacunas contra la influenza está concentrada en Europa y en Norteamérica. La producción actual de la vacuna de influenza trivalente, calculada en 300 millones de dosis anuales, se agotaría rápidamente ante la demanda generada por una pandemia. Obviamente, debería incluir además la cepa pandémica para que pudiera tener algún efecto protector en la población. Una estrategia alternativa para lograr una mayor cobertura de la población, sería la fabricación de las vacunas monovalentes, únicamente con la cepa viral pandémica, con lo cual se triplicaría la cantidad de dosis individuales. También se está explorando la posibilidad de incluir en la vacuna monovalente un adyuvante que potencie la respuesta inmune a la vacuna y que permita su aplicación por vía intradérmica, de dosis diez veces menores que las normales con igual respuesta protectora.

Por muchas razones, ningún país dispondrá de cantidades suficientes de vacunas al comienzo de la pandemia, ni en los primeros meses de la misma. Se calcula que la producción comercial en gran escala comenzará entre 3 y 6 meses siguientes a la emergencia del virus pandémico, una vez que se identifique plenamente cual es este virus.

Los virus de la influenza aviar H5N1 seleccionados para elaborar las vacunas «pre-pandémicas», son representativos de las cepas causantes de los casos humanos que se han presentado principalmente por contacto con aves enfermas o muertas. Estos virus representativos han sido modificados por la técnica de genética reversa y su inocuidad debe ser chequeada antes de emplearlos en estudios piloto.

Alrededor de 10 laboratorios en el mundo trabajan, bajo la coordinación de la OMS, en la producción de «vacunas semilla». Algunos de estos proyectos en desarrollo están en la fase de ensayo clínico, y se espera que pronto surjan otras vacunas prototipo. Se desea la producción de vacunas eficaces y baratas, que contengan adyuvantes y que coincidan con el virus pandémico, cuando este surja.

Preparación para la pandemia

La historia demuestra que en el siglo XX ocurrieron en el mundo 3 pandemias, todas causadas por el virus de influenza A y que en los últimos 300 años se presentaron 10 pandemias. Cuando se da un cambio significativo en alguna de las proteínas de la superficie viral (H o N), el nuevo virus sorprende a la población sin anticuerpos. Si logra replicarse en forma eficiente en la especie humana y adquiere la capacidad de transmitirse fácilmente de persona a persona, causando enfermedad grave, la pandemia puede establecerse. Esto sucedió en 1918 (con la llamada «Gripe española», causada por el subtipo H1N1), en 1957 (con la «Gripe asiática», debida al subtipo H2N2) y en 1968 (con la «Gripe de Hong Kong, ocasionada por el subtipo H3N2). Se cree que la gripe española causó entre 20 y 40 millones de muertes,

aunque según cálculos recientes en Asia y África, el total pudo ser del orden de 50 a 100 millones de defunciones.

Los expertos en influenza calculan que, solamente en los países industrializados, la próxima pandemia será responsable de unos 130 millones de consultas médicas ambulatorias, 2 millones de hospitalizaciones y 650.000 muertes en un plazo de 2 años, todo lo cual superaría en poco tiempo la capacidad de respuesta del sector salud. El impacto será mayor en los países en desarrollo, debido a las limitaciones en la vigilancia epidemiológica y en los recursos sanitarios así como el deficiente estado de salud y nutrición de la población. En consecuencia, se teme que una pandemia como la de 1918 cause entre 180 y 360 millones de muertes en el mundo.

Los expertos en influenza consideran que es inevitable una nueva pandemia. Pero, ¿cuándo empezará? ¿será causada por el virus de influenza A H5N1 o por uno diferente? ¿su efecto rivalizará con el de la gripe española o será menor, tal como sucedió en 1957 y en 1968? Nadie lo sabe y tenemos que estar preparados.

La planeación es esencial para reducir o hacer más lenta la transmisión del virus pandémico y para disminuir el número de casos, hospitalizaciones y muertes. La preparación ayudará a mantener los servicios esenciales y a reducir el impacto económico y social de la pandemia.

La OMS propuso en 2005 un Plan Mundial de Preparación contra la Pandemia de Influenza, el cual incluye una serie de fases, cada una de ellas ligada a acciones nacionales e internacionales de salud pública. Las acciones nacionales que se deben tomar en cada fase se subdividen de acuerdo con la situación epidemiológica local. La **tabla 4** resume este plan.

Se acepta que en la actualidad (octubre de 2006) el mundo está viviendo la fase 3, ya que un nuevo subtipo viral está causando infección en la especie humana pero no se ha difundido ni eficiente ni sustancialmente en ella.

El grupo de Brown afirma que, con respecto a la prevención, el énfasis debe hacerse en la identificación y en la educación de los grupos vulnerables, incluyendo los cazadores y las personas dedicadas al comercio de fauna silvestre: una industria que mueve anualmente unos 350 millones de animales vivos, por un valor aproximado de 20.000 millones de dólares. Por lo menos el 25% de este comercio se desarrolla en forma ilegal. Algunos autores informan que este comercio, legal e ilegal, puede tener serias implicaciones en la diseminación de la influenza aviar, por el riesgo potencial de infección humana y alteración del ecosistema.

Los expertos consideran que una pandemia de influenza tendría consecuencias devastadoras, con incalculables riesgos para la especie humana, para la economía mundial, y para la estabilidad política y social de muchos países. Por tanto, se necesitan grandes esfuerzos financieros y una muy buena estructura de salud para aminorar algunas de estas consecuencias. No obstante, los países en desarrollo están avocados a una carencia casi absoluta de recursos, tales como medicamentos antivirales y vacunas adecuadas. En muchos países africanos, latinoamericanos y del sudeste asiático, las personas conviven estrechamente con las aves domésticas y los mercados de aves vivas representan un serio peligro de transmisión a los humanos. La reducción del riesgo requiere educación acerca de la manipulación de las aves domésticas y cambio en las actitudes culturales con respecto a las interacciones de la gente con los animales. Se necesita reforzar medidas de precaución sencillas para la preparación de los alimentos, la manipulación de las aves de corral y para evitar la contaminación del agua, mientras se dispone de vacunas eficaces contra el virus de la influenza aviar A H5N1. La preparación contra

Tabla 4. Plan Mundial de Preparación contra la Influenza A H5N1(OMS, 2005)	
Período/Fase	Evento
Interepidémico	
Fase 1	Sin detección de nuevos subtipos de influenza en humanos. Un subtipo causante de infección en humanos puede estar presente en animales. El riesgo para los humanos es bajo ^a
Fase 2	Sin detección de nuevos subtipos de influenza en humanos. Sin embargo, la circulación de subtipos de influenza en animales plantea un riesgo sustancial de enfermedad en humanos ^a
Alerta de epidemia	
Fase 3.	Infección o infecciones en humanos con un nuevo subtipo, sin transmisión interhumana o transmisión esporádica a un contacto estrecho
Fase 4	Brote (s) pequeño (s) con limitada transmisión interhumana, pero muy focalizado (s), lo cual sugiere que el virus no se ha adaptado bien a la especie humana ^b
Fase 5	Brote (s) grande (s). pero todavía con transmisión interhumana focalizada, lo que sugiere que el virus se está adaptando progresivamente a la especie humana pero aun no es plenamente transmisible (riesgo pandémico sustancial) ^b
Pandémico	
Fase 6	Fase pandémica: transmisión alta y sustancial del virus en la población general ^b
Post pandémico	
	Regreso al período interpandémico

^a La diferencia entre las fases 1 y 2 se basa en el riesgo de infección o enfermedad humana, resultante de la circulación del virus en animales. Esta diferencia debe basarse en varios factores y su importancia relativa, de acuerdo con el conocimiento científico corriente. Los factores incluyen: patogenicidad en animales y en humanos; ocurrencia en animales domésticos y salvajes o solamente en estos últimos; si el virus es enzoótico o epizootico; virus localizado en una sola área geográfica o diseminado; información adicional sobre el genoma viral y/u otra información científica

^b La diferencia entre las fases 3, 4 y 5 se basa en la evaluación del riesgo de una pandemia. Deben considerarse varios factores y su importancia relativa, de acuerdo con el conocimiento científico corriente: tasa de transmisión, localización geográfica y diseminación, gravedad de la enfermedad, presencia de genes de cepas humanas, (si el virus se deriva de animales), información adicional sobre el genoma viral y/u otra información científica.

Modificada de: WHO global influenza preparedness plan. The role of WHO and recommendations for national measures before and during pandemics

la pandemia en los países en desarrollo debe basarse en educación de la población y en la generación de cambios culturales e higiénicos.

La OMS propone 5 acciones para reducir el riesgo de una pandemia:

- Reducción de la exposición humana
- Intensificación de la capacidad de respuesta rápida (provisión de medicamentos antivirales suficientes para profilaxis selectiva, combinada con medidas sociales)
- Establecimiento de sistemas de alerta temprana
- Investigación rápida de casos y brotes
- Refuerzo de los sistemas de salud

Si comienza la transmisión interhumana de una cepa pandémica, la velocidad de su difusión dependerá de cuán temprana sea su detección y cuán rápido pueda movilizarse la comunidad internacional para proporcionar ayuda, incluyendo el suministro de medicamentos antivirales profilácticos. Por tanto, además de los planes nacionales, los gobiernos deben buscar colaboración con los países vecinos. Sin esta cooperación, ningún país podrá sentirse a salvo.

Summary: Influenza is an acute and debilitating viral disease, able for cause morbidity especially in infants, elderly patients and with any immunodeficiency or weakening condition. Influenza is produced by members of the *Orthomyxoviridae* family, including types A, B and C. Influenza A viruses can affect humans and animals, and have a great genetic plasticity for mute and evade populational immunity, generating from a local outbreak to pandemics. These ones can occur each 10 or 50 years, as a consequence of external changes in viral proteins, advancing like successive waves, and in few months or some years, can circulate worldwide. Birds have influenza virus subtypes genetically different from those affecting humans. Although they have not the same pathogenicity, circulation in avian population can induce mutations and make them more virulent subtypes for birds and other hosts, like humans. In the last 50 to 60 years, there have been around the world about 21 highly pathogenic avian influenza virus outbreaks, geographically restricted, and without passage through the bird-human barrier. Since 1997, the H5N1 subtypes caused more than 19 outbreaks among commercial birds of diverse countries, and has acquired a high pathogenicity allowing influenza virus to affect another species, like human and felines, which predict a plausible pandemic. Experts consider that a influenza pandemic would have devastating consequences, with incalculable effects for humans, world economy, political and social stability of many countries. Therefore, big financial efforts and a very good structure of health are needed to reduce some of these consequences. In this article the main aspects of that alarming hazard are revised.

Keywords: Avian influenza, pandemic, epidemiology, antigenic change, vaccine.

Aguirre-Muñoz AC, Arango-Restrepo AE. Avian influenza: actual condition. *Medicina & Laboratorio* 2006; 12: 411-437.

Module 15 (Virology), number 11. Editora Médica Colombiana S.A., 2006®.

Bibliografía

1. **Apisamthanarak A, Kitphati R, Thongphubeth K, et al.** Atypical avian influenza (H5N1) *Emerg Infect Dis*, 2004;10:1321-4.
2. **Barry JM.** 1918 Revisited. Lessons and suggestions for further inquire. En: *The threat of pandemic influenza: are we ready?* The National Acad Press. Washington D.C. 2005.
3. **Berrios P.** Influenza aviar asiática. Monografías electrónicas de Patología Veterinaria. Sociedad Chilena de Patología Veterinaria. Disponible en: <http://www.patologiaveterinaria.cl/Monografias/Numero1/04.htm#Indice> consultada en octubre de 2006.
4. **Bridges CB, Lim W, Hu-Primmer J, et al.** Risk of influenza A (H5N1) among poultry workers, Hong Kong, 1997-1998. *J Infect Dis* 2002;185:1005-1010.
5. **Brock SC, Goldenring JR and Crowe JE.** Apical recycling systems regulate directional budding of respiratory syncytial virus from polarized epithelial cells. *PNAS* Dec 9, 2003; 100(25):15143-15148. Disponible en www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.2434327100 Consultado en octubre de 2006.
6. **Brown C.** First H5N1 outbreak in humans associated with dead wild birds: Azerbaijan, February-April 2006. Program and abstracts of the FAO and OIE International Scientific Conference on Avian Influenza and Wild Birds; May 30-31, 2006; Rome, Italy. Disponible en <http://www.fao.org/ag/againfo/subjects/en/health/diseases-cards/> Consultada en octubre de 2006.
7. **Casas I, Pozo F.** Síndrome respiratorio agudo grave, gripe aviar e infección por metapneumovirus humano. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2005; 23(7):438-48. Disponible en www.doyma.es. Consultado en octubre 6 de 2005.
8. Centers for Disease Control and Prevention /CDC). Prevention and Control of Influenza. *MMWR*. 2005 / 54(RR08);1-40.
9. Centers for Disease Control. Key Facts About Avian Influenza (Bird Flu) and Avian Influenza A (H5N1) Virus. Avian influenza (birds flu). Avian Influenza in birds. Disponible en: <http://www.cdc.gov/flu/avian/gen-info/facts.htm> Consultada en octubre de 2006.
10. CDC. Influenza. En: *Yellow Book: Health Information for International Travel, 2005-2006*. Consultado en: www.cdc.gov/travel/diseases.htm#influ
11. CDC. Influenza. En: *Epidemiology & Prevention of Vaccine-Preventable Diseases. «The Pink Book» 9th Edition*. Disponible en: www.cdc.gov/nip/publications/pink/flu.pdf Consultada en octubre de 2006.
12. **Chang PK.** Outbreak of avian influenza A (H5N1) virus infection in Hong Kong, 1997. *Clin Infect Dis* 2002;34 (Suppl 2):S58-S64
13. **Chopitayasunondh T, Ungchusak K, HanshaowarakulW, et al.** Human disease from influenza A (H5N1), Thailand, 2004. *Emerg Infect Dis* 2005;11:201-9.
14. **Cifu A, Levinson W.** Influenza. *JAMA* December 13, 2000. Vol 284 No. 22:2847-49.

15. **Class EC, Osterhaus AD, van Beek R, De Jong JC, Rimmelzwaan GF, Seene DA, et al.** Human Influenza A H5N1 virus related to a highly pathogenic avian influenza virus. *Lancet*, 1998;351:472-477.
16. **Domenech J, Labroth J, Martin V.** Avian influenza: global situation. Program and abstracts of the FAO and OIE International Scientific Conference on Avian Influenza and Wild Birds; May 30-31, 2006; Rome, Italy. Disponible en: http://www.fao.org/ag/againfo/subjects/en/health/diseases-cards/conference/documents/Abstract_Domenech.pdf Consultada en octubre de 2006.
17. **Elbers AR, Köch G, Bruma A.** Performance of clinical signs in poultry for the detection of outbreaks during the avian influenza A (H/N) in the Netherlands in 2003. *Avian Pathol* 2005;34: 181-7.
18. FAO. Wild birds and Avian Influenza. Disponible en: www.fao.org/ag/againfo/subjects/en/health/diseases-cards/avian_HPAIrisk.html Consultada en octubre de 2006.
19. **Fouchier RA, Schneeberg PM, Rozendaal FW, et al.** Avian influenza A virus (H7N7) associated with human conjunctivitis and fatal case of acute respiratory distress syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:1356-61.
20. **Guan Y, Peiris JS, Lipatov AS, et al.** Emergence of multiple genotypes of H5N1 avian influenza viruses in Hong Kong SAR. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002a; 99: 8950-5.. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12077307> – Textop complete en www.pnas.org/cgi/content/full/99/13/8950 Consultada en octubre de 2006.
21. **Hien TT, Liem NT, Dung NT, et al.** Avian influenza A (H5N1) in 10 patients in Vietnam. *N Engl J Med*, 2004;350:1179-88.
22. **Horimoto T and Kawaoka Y.** Pandemic Threat Posed by Avian Influenza A Viruses. *Clin Microbiol Rev*, Jan. 2001, Vol. 14, No.1:129–149.
23. **Horimoto T, Nakayama K, Smeekens SP, Kawaoka Y.** Proprotein-processing endoproteases PC6 and furin both activate hemagglutinin of virulent avian influenza viruses. *J Virol* 1994; 68: 6074-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8057485> Texto completo en www.pubmedcentral.gov/articlerender.fcgi?pubmedid=8057485 Consultada en octubre de 2006.
24. **Jonson NP, Mueller J.** Updating the accounts: Global mortality of the 1918-20 Spanish Influenza pandemic. *Bull Hist Med* 2002;76:105-15. Abstract. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=11875246&dopt=Abstract Consultada en octubre de 2006.
25. **de Jong MD, Cam BV, Qui PT, et al.** Fatal avian influenza A (H5N1) in a child presenting with diarrhoea followed by coma. *N Engl J Med*, 2005;352:686-91.
26. **Kamps BS, Hoffman C and Preiser W.** Influenza Report, 2006. Paris, Flying Publisher. Disponible en: www.influenzaReport.com Consultada en octubre de 2006.
27. **Katz JM, Lim W, Bridges CB, Rowe T, Hu Primmer J, Lu X, et al.** Antibody responses in individuals infected with avian influenza A (H5N1) viruses and detection of anti-H5 antibody among household and social contacts. *J Infect Dis*, 1999;180:1763-1770.
28. **Kilbourne ED.** Influenza pandemics of the 20th century. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 9-14. Texto completo en: www.cdc.gov/ncidod/EID/vol12no01/05-1254.htm Consultada en octubre de 2006.
29. **Li KS, Y. Guan, J. Wang, G. J. D. Smith, K. M. Xu, L. Duan, A. P. Rahardjo, P. Puthavathana, C. Buranathai, T. D. Nguyen, A. T. S. Estoepangestie, A. Chaisingh, P. Auewarakul, H. T. Long, N. T. H. Hanh, R. J. Webby, L. L.M. Poon, H. Chen, K. F. Shortridge, K. Y. Yuen, R. G. Webster & J. S. M. Peiris.** Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia. *Nature*, 2004.430:209-213.
30. **Ligon BL.** Avian Influenza Virus H5N1: a review of its history and information regarding its potential to cause the next pandemic. *Semin Pediatr Infect Dis* 2005; 16:326-335.
31. **Matrosovich MN, Matrosovich TY, Gray T, Roberts NA., and Klensk HD.** Human and avian influenza viruses target different cell types in cultures of human airway epithelium. *PNAS*. March 30, 2004 vol. 101 no. 13: 4620–4624 Disponible en: <http://www.pnas.org/cgi/content/full/101/13/4620?maxtoshow=&HITS=10&hits=10&RESULTFORMAT=&fulltext=human+and+avian+influenza&searchid=1&FIRSTINDEX=0&resourcetype=HWCIT> Consultada en octubre de 2006.
32. **McKim-Breschkin J, Trivedi T, Hampson A, et al.** neuraminidase sequence analysis and susceptibilities of influenza virus clinical isolates to zanamivir and oseltamivir. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:2264-72.
33. **Mounts AW, Kwong H, Izurieta HS, et al.** Case-control study of the risks factors for avian influenza A (H5N1) disease, Hong Kong, 1997, *J Infect Dis* 1999;180:505-508.
34. **Neumann G and Kawaoka Y.** Host Range restriction and Pathogenicity in the Context of Influenza Pandemic. *Emerging Infectious Diseases* www.cdc.gov/eid Vol. 12, No. 6, June 2006.
35. **Olofsson S, Kumlin U, Dimock K, and Arnberg N.** Avian influenza and sialic acid receptors: more than meets the eye? *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 184–88. Consultado en 2005. Disponible en <http://infection.thelancet.com> Vol 5 March 2005.
36. Organización Internacional de Epizootias (OIE). Clasificación de las enfermedades de notificación obligatoria. Disponible en: http://www.oie.int/es/maladies/es_classification.htm Consultada en octubre de 2006.
37. **Osterholm MT.** Preparing for the next pandemic. *N Engl J Med* May 5, 2005; 352(18):1839-1842. Disponible en www.nejm.org. Consultado en octubre de 2005.

38. **Peiris M, Yuen KY, Leung CW, Chan KH, Ip PI, Lai RW, et al.** Human infection with influenza H9N2, *Lancet* 1999;354:916-7
39. **Perkins LE, Swayne DE.** Comparative susceptibility of selected avian and mammalian species to a Hong Kong-origin H5N1 high pathogenic avian influenza virus. *Avian Dis* 2003; 47(3 suppl):956-67.
40. **Potter CW.** Influenza. En: *Principles and practice of Clinical Virology*. 4th edition. 2000. Eds. Arie J. Zuckerman, Jangu E. Banatvala and John R. Pattison. John Wiley and sons, Ltd., Chichester.
41. **Repetto G.** Influenza humana y aviaria: pasado, presente y futuro. *Rev Chil Pediatr*, 2006. 77 (1); 12-19.
42. **Rogers, G. N., J. C. Paulson, R. S. Daniels, J. J. Skehel, I. A. Wilson, and D. C. Wiley.** 1983. Single amino acid substitutions in influenza haemagglutinin change receptor binding specificity. *Nature* 304:76-78.
43. **Swayne DE, Suárez DL.** Highly pathogenic avian influenza. *Rev Sci Tech* 2000a;19: 463-468.
44. The Writing Committee of the Health World Organization (WHO) Consultation on Human Influenza A/H5. Avian Influenza A H5N1 infection in humans. *N Engl J Med* 2005;353:1374-85.
45. Treanor John, Influenza Vaccine - Outmaneuvering Antigenic Shift and Drift. *N Engl J Med*, 350;3:218-220 January 15, 2004. Disponible en: www.nejm.org Consultada en octubre de 2006.
46. **Ungchusak K, Auewarakul P, Dowell SF, et al.** Probable person-to-person transmission of avian influenza A (H5N1), *N Engl J Med* 2005;352:333-40.
47. **Webster RG and Hulse DJ.** Microbial adaptation and change: avian influenza. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 2004, 23 (2), 453-465
48. World Health Organization. Avian Influenza: assessing the pandemic threat, 2005. Disponible en: www.who.int/csr/disease/influenza/WHO_CDS_2005_29/en/ Consultada en octubre de 2006.
49. WHO global influenza preparedness plan. The role of WHO and recommendations for national measures before and during pandemics. Disponible en: http://www.who.int/csr/resources/publications/influenza/WHO_CDS_CSR_GIP_2005_5.pdf Consultada en octubre de 2006.
50. WHO. WHO guidelines for the collection of human specimens for laboratory diagnosis of avian influenza infection. Geneva: World Health Organisation, 2005. (Accessed November 26, 2005 at www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/humanspecimens/en/print.html)
51. WHO. WHO Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance. Geneva: World Health Organisation, 2005 (Accessed November 28, 2005 at www.who.int/csr/resources/publications/influenza/whocdscsrncs20025rev.pdf)
52. www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/RapidTestInfluenza_web.pdf
53. WHO. WHO pandemic influenza draft protocol for rapid response and containment – 27 January 2006. Consultado en 2006 en www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/draftprotocol/en/index.html
54. WHO. Recommended laboratory tests to identify avian influenza A virus in specimens from humans. Geneva: World Health Organisation, 2005 (Accessed November 26, 2005 at www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/avian_labtests2.pdf)
55. WHO. Weekly epidemiological record. Relevé épidémiologique hebdomadaire. Epidemiology of WHO-confirmed human cases of avian influenza A(H5N1) infection. 30 JUNE 2006, 81st YEAR / 30 JUIN 2006, 81e ANNÉE No. 26, 2006. 81: 249–260 Consultado en 2006 en www.who.int/wer/wer8126.pdf
56. WHO. WHO recommendations on the use of rapid testing for influenza diagnosis. July 2005. Consultado en 2005 en www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/rapid_testing/en/index.html
57. WHO. Enfermedades Transmisibles (Vigilancia y Respuesta) Programa Mundial de la Gripe. Respuesta a la amenaza de una pandemia de gripe aviar. Medidas estratégicas recomendadas. Organización Mundial de la Salud 2005. Disponible en www.who.int Consultado en 2005.
58. WHO. Department of Communicable Disease Surveillance and Response. Global Influenza Programme. WHO guidance on development of influenza vaccine reference viruses by reverse genetics. World Health Organization 2005 Disponible en www.who.int Consultado en 2005.
59. World Health Organization. WHO intercountry-consultation: influenza A/H5N1 in humans in Asia. Manila, Philippines, 6-7 may 2005.
60. **Wright PF, Webster RG.** Orthomyxoviruses. En: Knipe DM, Howley Pm, Griffin DE, Martin MA, Lamb RA, Roizman B, Straus SE (eds). *Field's Virology*. 4th ed, 2001. Philadelphia, Lippincott Williams and Wilks;pp:1533-1579.
61. **Yuen KY, Chang PK, Peiris M, Tsang DN, Que TL, Shortridge KF, et al.** Clinical features and rapid viral diagnosis of human disease associated with avian influenza H5N1 virus. *Lancet*, 1998;351:467-71.
62. **Zambon MC.** Epidemiology and pathogenesis of influenza. *J Antimicrob Chemother* 1999; 44: Suppl: 3-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10877456> Texto completo en: http://jac.oxfordjournals.org/cgi/content/abstract/44/suppl_2/3 Consultada en octubre de 2006.
63. **Zimmerman RK.** Recent changes in influenza epidemiology and vaccination recommendations. *Journal Family Practice*, 2005.54 (1): S1-S8.