

Revisión

ECOEPIDEMIOLOGÍA DE LOS VIRUS DE INFLUENZA AVIAR

BELDOMENICO, P. M.¹ & UHART, M. M.¹

RESUMEN

Luego del surgimiento y posterior propagación del virus de influenza aviar de alta patogenicidad H5N1 en Asia, el número de publicaciones científicas sobre influenza aviar se ha incrementado considerablemente. Sin embargo, son escasos los trabajos de revisión que intenten recopilar el conocimiento actual para describir la historia natural de estos virus. El presente trabajo revisa lo que hasta hoy sabemos de la ecoepidemiología de los virus de influenza aviar. Se describen los tipos de virus de influenza aviar de alta y baja patogenicidad, los reservorios naturales, la importancia de los humedales y las especies animales puente, la transmisión y la relación de las aves silvestres con las aves domésticas, las posibles rutas de transporte del virus ya sea por las mismas aves migratorias o por acciones del ser humano y el comercio internacional. Se reseñan los recientes brotes en aves domésticas y se analizan las razones por las cuales es poco probable que ocurra la transmisión por aves migratorias desde América del Norte hacia América del Sur del virus de alta patogenicidad H5N1. Se recomiendan las condiciones básicas de manejo y bioseguridad en explotaciones industriales y domésticas de aves de granja para evitar la difusión de este virus. Se señala que el limitado conocimiento sobre la ecoepidemiología de este virus requiere estudios de cooperación internacional e interinstitucional para implementar medidas de alerta temprana y prevención en caso de que el virus H5N1 pudiera ser introducido en Sudamérica.

SUMMARY

Ecoepidemiology of avian influenza viruses.

Following the emergence and ulterior propagation of highly pathogenic avian influenza H5N1 in Asia, the amount of scientific literature on avian influenza has increased considerably. However, review articles that intend to collate the current knowledge to describe the natural history of these viruses are scarce. The present work reviews our present knowledge on the ecoepidemiology of influenza viruses. A description is offered of the types of avian influenza viruses, highly and low pathogenic, their natural reservoirs, the importance of wetlands and bridge species, the transmission and the relationship between wild birds and poultry, the plausible ways of propagation of the virus,

1. Global Health Programs. Wildlife Conservation Society. Global Avian Influenza Network for Surveillance.
Emails: pbeldomenico@wcs.org ; muhart@wcs.org

Manuscrito recibido el 3 de marzo de 2008 y aceptado para su publicación el 27 de mayo de 2008.

either by migratory birds or by human actions and international commerce. Recent outbreaks in poultry are reviewed and the reasons why migratory birds are unlikely to carry the highly pathogenic H5N1 virus to South America, should it enter North America, are discussed. Management and biosafety measures to avoid the propagation in the virus are recommended for poultry farming and industry. It is highlighted that the limited knowledge on the ecoepidemiology of this virus requires international and interinstitutional cooperation to implement early warning systems and prevention in the case highly pathogenic H5N1 is introduced in South America.

INTRODUCCIÓN

De la ‘Ecoepidemiología’

Para abordar el estudio de los complejos fenómenos que determinan la incidencia de enfermedades/infecciones/infestaciones en poblaciones naturales, es indispensable un enfoque multidisciplinario. Un gran número de disciplinas son imprescindibles para el estudio de las enfermedades en la fauna: la epidemiología, la ecología, la zoología, la fisiología, la microbiología, la parasitología, la patología, la toxicología, la inmunología, la bioestadística y la genética, entre otras. Las dos disciplinas que han liderado el desarrollo del estudio de salud en especies silvestres son la epidemiología veterinaria, del lado de las ciencias médicas, y la ecología, del lado de las ciencias biológicas (Beldomenico, 2006). La ecología es el estudio científico de la distribución y abundancia de los organismos y las interacciones que determinan tal distribución y abundancia (Begon *et al.*, 2006). La epidemiología es el estudio de la distribución y los determinantes de estados o eventos relacionados con la salud en poblaciones (Last, 1988). Básicamente, epidemiología es ecología de poblaciones con respecto a patógenos/enfermedad. Aunque con distintos puntos de vista, ambos enfoques se efectúan a nivel poblacional y son esencialmente cuantitativos. Cada uno aporta metodologías y conocimientos

fundamentalmente complementarios. La subdisciplina emergente contiene fundamentos y elementos de ambos orígenes y es denominada ‘*wildlife epidemiology*’ (epidemiología en animales silvestres) por aquellos más relacionados con las ciencias médicas, o ‘*disease ecology*’ (ecología de enfermedades) por aquellos provenientes de las ciencias puramente biológicas. Con ánimos de integración, preferimos utilizar el término ‘ecoepidemiología’.

De los virus de influenza aviar

Los virus de Influenza se encuentran clasificados en tres géneros de la familia *Orthomyxoviridae*, y son: *Influenzavirus A*, *Influenzavirus B* e *Influenzavirus C*, conocidos también como tipos A, B y C de los virus de influenza. Se diferencian por las reacciones serológicas que detectan a dos de sus proteínas internas, la nucleoproteína y la proteína de matriz, las cuales difieren para cada género o tipo. El agente causal de la Influenza Aviar (IA) es un virus del tipo A, cuyo genoma está constituido de ácido ribonucleico (ARN). Este tipo de virus además de infectar aves tiene la capacidad de infectar a mamíferos como caballos, cerdos, carnívoros y al hombre. Los virus de Influenza tipo A se subtipifican de acuerdo a las propiedades antigénicas de dos glicoproteínas que se encuentran en la superficie externa de la envoltura: la hemaglutinina (HA) y la neuraminidasa (NA) (Cox *et al.*,

2000). La HA produce la unión del virus a los receptores de la célula del hospedero y ayuda a la posterior fusión de la envoltura con la membrana del endosoma, que se forma al inicio de la infección, permitiendo con esto la salida de los segmentos genómicos al citoplasma celular para iniciar la replicación del virus. La NA, por su parte, libera a las partículas virales de progenie de los receptores de las células hospederas cuando emergen en el proceso de gemación. Hasta la fecha, han sido identificados 16 subtipos HA y 9 subtipos NA, que se encuentran en diferentes combinaciones en los virus identificados (García-García & Ramos, 2006). Los virus se nombran de acuerdo al subtipo de HA y de NA, por ejemplo H5N1. Para algunos subtipos (H5 y H7), existen cepas de virus de influenza aviar (VIA) de alta patogenicidad (VIAAP) y de baja patogenicidad (VIABP). Las cepas de VIAAP surgen por una modificación de la HA que le permite causar infecciones sistémicas produciendo alta letalidad en parvadas afectadas (García-García & Ramos, 2006).

De la persistencia de patógenos en la naturaleza

Los patógenos son parásitos que tienen el potencial de causar enfermedad en sus hospederos mientras se valen de los recursos de éstos para proliferar. Un patógeno que prolifera agresivamente en su hospedador tiene la capacidad de sustraer más recursos de su hospedero para su creciente población, pero con el consiguiente efecto adverso sobre el hospedero. Este efecto deletéreo sobre los organismos parasitados puede determinar un impacto negativo en la dinámica poblacional de los hospederos, lo que resultaría en la propia declinación del patógeno, al irse agotando los hospederos susceptibles a quienes infectar (Beldomenico, 2007). La persistencia de un patógeno

es posible cuando existen mecanismos o condiciones que aseguren la disponibilidad de hospederos susceptibles de ser infectados. La selección natural ha determinado que los patógenos desarrollen diferentes mecanismos que aseguren su perpetuación en la naturaleza. De este modo, hay patógenos generalistas capaces de usar un amplio rango de hospederos y de esa manera contar con alternativas cuando determinadas especies declinan, y patógenos especialistas, aquellos que dependen de pocas especies hospederas denominadas “reservorios naturales”. En éstos, millones de años de co-evolución determinaron relaciones parásito-hospedero de mutua tolerancia, en algunos casos llegando a niveles de comensalismo o mutualismo (Begon *et al.*, 2006). Un patógeno especialista de alta patogenicidad puede comprometer su propia subsistencia al matar a su hospedero (acortando el período en el que éste actúa como fuente de infección), al deprimirlo (disminuyendo la probabilidad del patógeno de llegar a nuevos lugares con nuevos susceptibles), y al afectar su reproducción (incapacitando el arribo de nuevos susceptibles) (Beldomenico, 2007).

INFLUENZA AVIAR Y SU ECOEPIDEMIOLOGÍA

Perpetuación

Los virus de influenza aviar (VIA) son en cierto modo especialistas, ya que si bien pueden infectar a un gran rango de hospederos, los subtipos existentes son mantenidos por un grupo limitado de especies. Al ser altamente contagiosos, los virus de influenza también corren peligro de quedarse sin hospederos susceptibles que aseguren su perpetuación, ya que al propagarse rápidamente, pronto la mayoría de los individuos de una población pasan de infectados a recuperados,

desarrollando inmunidad. Como estrategia para evitar este problema, los virus de influenza aviar tienen la capacidad de variar antigénicamente y para esto son capaces de utilizar todos los métodos de evolución viral conocidos (reasociación, mutación, inserción, eliminación y recombinación) (Webster *et al.*, 2007). Esta baja fidelidad en la replicación determina que en ocasiones, en los subtipos virales H5 y H7, surjan cepas de alta patogenicidad, que esporádicamente pueden dar emergencia a epidemias y pandemias de influenza tipo A en aves y también en mamíferos (incluyendo al hombre) (Webster *et al.*, 1992). No obstante, durante la circulación entre los reservorios naturales no existen cambios marcados en los ácidos nucleicos del virus (Gorman *et al.*, 1992). Esto se interpreta como que los virus están perfectamente adaptados su reservorio natural, por lo que las continuas mutaciones no significarían una ventaja selectiva, y entonces no serían favorecidas; lo cual concuerda con que la emergencia de VIAAP ha sido documentada casi exclusivamente durante la infección de hospederos no habituales (por ej. aves domésticas y cerdos). Así, el surgimiento de los VIAAP sería un accidente, no representando una ventaja adaptativa para el virus, ya que los emergentes VIAAP no logran perpetuarse en la naturaleza (quizá con la excepción del VIAAP H5N1 asiático actual) (Webster *et al.*, 2007).

Reservorios naturales

Todos los subtipos conocidos (HA y NA) de virus Influenza tipo A han sido aislados de aves acuáticas (Webster *et al.*, 2007). Particularmente aquellas pertenecientes a los órdenes Anseriformes (patos, gansos y cisnes) y Charadriiformes (gaviotas, playeras y gaviotines), son consideradas el reservorio natural de VIA (Olsen *et al.*, 2006). A partir de ellas, el virus se puede transmitir a

otras especies de diferentes taxa (otras aves, cerdos, equinos, félidos, visón, mamíferos marinos y humanos). Los aislamientos más frecuentes corresponden principalmente a aves de los géneros *Anas*, *Anser*, *Cygnus*, *Larus*, y *Uria*, pero el género con las prevalencias más altas es *Anas* (Cuadro 1) (Olsen *et al.*, 2006). Estos virus que cumplen un ciclo natural en aves silvestres son de baja patogenicidad, por lo que producen infecciones subclínicas o enfermedad leve.

Un estudio ecoepidemiológico reciente muestra que las mayores prevalencias de VIABP son observadas principalmente en aves que migran largas distancias y en aquellas que se alimentan en la superficie del agua (Garamszegi & Møller, 2007). Las prevalencias son mucho más elevadas en patos de superficie (aproximadamente 10%) que en patos zambullidores y el resto de las aves acuáticas (<2%) (Olsen *et al.*, 2006). En parte, esta diferencia entre gremios de patos puede deberse a la diferencia en comportamiento alimenticio, ya que los patos zambullidores se alimentan a más profundidad y por lo general en hábitats marinos (Del Hoyo *et al.*, 1992).

Las playeras (familias Charadriidae y Scolopacidae) no aparentan ser un reservorio significativo en Eurasia (Munster *et al.*, 2007), pero parecen ser la fuente principal de VIA en Norte América, siendo éstas el grupo donde se encuentra la mayor variedad de subtipos (Krauss *et al.*, 2004). No obstante, hace falta ampliar la extensión geográfica de los estudios para conocer mejor la realidad en la totalidad del continente. Un estudio reciente reporta que de 165 muestras examinadas provenientes de playeras en distintos sitios de la Patagonia argentina el 100% fue negativa a VIA (Escudero *et al.*, 2008). Los reportes actuales indican que, en América, los subtipos capaces de volverse altamente patogénicos (H5 y H7) se hallan con más

Cuadro 1: Prevalencia de virus Influenza A en aves silvestres. (Adaptada de Olsen et al (2006)).
Prevalencia de virus Influenza A en aves silvestres.

Grupo	Total de muestras	Muestras positivas	Prevalencia
Patos (principalmente <i>Anas</i> spp.)	34503	3275	9.5%
Cisnes (<i>Cygnus</i> spp.)	5009	94	1.9%
Gansos (<i>Anser</i> spp. y <i>Branta</i> spp.)	4806	47	1.0%
Gaviotas (<i>Larus</i> spp.)	14505	199	1.4%
Gaviotines (<i>Sterna</i> spp.)	2521	24	0.9%
Playeros y chorlos (Familias Scolopacidae y Charadriidae)	2637	21	0.8%
Gallaretas (Gruiformes: <i>Fulica</i> spp.)	1962	27	1.4%
Cormoranes (Orden Pelecaniformes)	4500	18	0.4%
Petrelas (Orden Procelariformes)	1416	4	0.3%

frecuencia en playeras (Krauss *et al.*, 2004; Krauss *et al.*, 2007). Sin embargo, los VIA-BP H5N1 se han aislado con frecuencia en patos de Norte América (USDA, 2007).

La mayoría de las especies de gaviotas se reproducen en grandes colonias, donde las aves adultas y jóvenes se encuentran conglomeradas en poco espacio, favoreciendo así la dispersión de los VIA. Éste es un aspecto ecológico importante, puesto que cualquier brote podría iniciarse y extenderse rápidamente en los grupos de aves que se congregan en grandes números durante la muda, migración, reproducción o invernada. Los subtipos H13 y H16 son principalmente hallados en gaviotas, lo que sugiere nichos especie-específicos para algunos de los VIA (Munster *et al.*, 2007).

Transmisión

Los VIABP preferentemente infectan y se replican en las células que cubren el tracto

gastrointestinal de sus hospederos naturales (aunque también es posible la replicación en el epitelio respiratorio) y son excretados en altas concentraciones en las heces (Webster *et al.*, 1992). Se ha demostrado persistencia en agua dulce, tanto para VIABP como para VIAAP (Webster, 1978; Brown *et al.*, 2007), siendo para VIAAP inversamente proporcional a la temperatura y salinidad del agua (Stallknecht *et al.*, 1990). Todo esto sugiere que la transmisión entre aves se da preferentemente por la ruta fecal-oral, y sería más eficiente en espejos de agua dulce con bajas temperaturas. Dadas estas características, los VIABP se mantienen principalmente en las comunidades de aves acuáticas, las que en general sufren la infección de manera asintomática. Sin embargo, la eliminación preponderantemente orofaríngea observada para el VIAAP H5N1 asiático actual hecha por tierra estos dogmas tradicionales (Sturm-Ramirez *et al.*, 2005). Hasta el momento se

desconoce qué tan importante sería la vía respiratoria de excreción viral para la manutención del VIAAPH5N1, su persistencia en ambientes acuáticos, y la transmisión entre especies silvestres y domésticas.

Importancia de los humedales

Ya sea como causa o consecuencia de que las aves acuáticas son el reservorio natural de los VIA, los humedales cumplen un rol preponderante en su ecoepidemiología. Los factores que influyen en su protagonismo son: i) La alta densidad de aves susceptibles de distintas especies que se congregan en estos sitios asegura una alta tasa de contacto entre infectados y susceptibles. ii) Las aves acuáticas (Anseriformes y Charadriiformes) son el reservorio (fuente) natural de la mayoría de las cepas de influenza aviar. iii) estos virus persisten en agua dulce y la ruta fecal-oral vía agua contaminada parece ser su principal forma de transmisión. iv) El agrupamiento de especies diferentes hace posible la co-infección con varias cepas y el intercambio viral entre distintos hospederos, favoreciendo de esta manera la evolución del virus y la emergencia de nuevas variantes antigénicas (cepas virales). v) El uso de humedales como sitios de escala por parte de aves migratorias supone una periódica inmigración y emigración de individuos potencialmente portadores de virus.

Patrón temporal

La vigilancia epidemiológica extensiva desarrollada en patos de América del Norte ha demostrado que las mayores prevalencias de los VIABP se observan principalmente en aves juveniles (probablemente por inexperiencia inmunológica) con un pico a principios de otoño, antes de la migración hacia el sur (Krauss *et al.*, 2004). Patrones similares fueron detectados en patos de Europa, pero allí las prevalencias en prima-

vera no se presentan tan bajas (Olsen *et al.*, 2006). La estacionalidad de las infecciones en aves playeras de Norteamérica parecen ser opuestas a las observadas en patos, con las mayores prevalencias (aproximadamente 14%) durante la primavera boreal (cuando las migratorias llegan a reproducirse). Estudios genéticos recientes no han encontrado grandes diferencias entre los VIA de playeras y patos de Norteamérica, con lo cual se cree que los 'pooles' génicos de ambos grupos no estarían separados (Widjaja *et al.*, 2004; Spackman *et al.*, 2005). Esto ha llevado a plantear la hipótesis que distintas familias de aves acuáticas se encuentran involucradas en la perpetuación de los VIABP y que los playeros podrían estar llevando los virus hacia el norte, cuando migran a las áreas de reproducción que comparten con los patos en la primavera boreal. Se ha evidenciado un patrón bianual en los subtipos dominantes para patos (H3, H4 y H6), en el que picos de prevalencia en playeras son seguidos por picos en patos (Krauss *et al.*, 2004). En Europa, sin embargo, esta asincronía en la prevalencia entre playeras y patos no se observa, y las playeras presentan baja prevalencia a lo largo de todo el año, por lo que no parecen ser reservorios de importancia en ese continente (Olsen *et al.*, 2006; Munster *et al.*, 2007).

Patrón espacial

Existen dos diferentes linajes de VIA bien delimitados y separados geográficamente, uno de Eurasia y uno americano (Olsen *et al.*, 2006). Esto es evidencia de una separación ecológica y geográfica de largo plazo. Sin embargo, la avifauna de América del Norte y de Eurasia no está completamente separada. Algunos patos y playeras unen a Norte América y Eurasia durante su migración (Del Hoyo *et al.*, 1992). La mayor parte de las

especies con tránsito entre los continentes son Charadriiformes, pero algunas especies de patos, como por ejemplo *Anas acuta*, que en Europa presenta una prevalencia de VIA del 3% (Munster *et al.*, 2007), son comunes tanto en Norteamérica como en Eurasia (Del Hoyo *et al.*, 1992). Esto sugiere que el aislamiento entre los linajes no sería completo, lo que es respaldado por el hallazgo de VIA conteniendo una mezcla de genes de ambos linajes (Makarova *et al.*, 1999; Wallensten *et al.*, 2005), o el hallazgo de virus de linajes americanos en África (Abolnik, 2007). No obstante, la vigilancia epidemiológica intensiva actual sugiere que el riesgo de intercambio intercontinental de VIA sería muy bajo (Krauss *et al.*, 2007; Winker *et al.*, 2007).

Un estudio virológico reciente (Pereda *et al.*, 2008) sugiere que existe un linaje viral único para Sudamérica, que probablemente evolucionó independientemente, con mínimo intercambio genético con VIA de otras latitudes.

Más allá de los patrones de migración de las aves silvestres, hay que tener en cuenta que en el actual mundo globalizado, el mayor riesgo de traslado de VIA es a través del comercio y tráfico internacional de aves, subproductos, o agentes expuestos a estos (Karesh *et al.*, 2007).

Ecoepidemiología de los virus de alta patogenicidad

En ocasiones, los subtipos H5 y H7 de VIABP mutan a variedades altamente patogénicas para aves, principalmente cuando tienen oportunidad de infectar a gallináceas domésticas. Los VIAAP han sido aislados principalmente en estas aves (gallinas, pavos y codornices), en las que causan una enfermedad aguda generalizada con alta letalidad. En general, los VIAAP no son perpetuados

por aves silvestres acuáticas (Webster *et al.*, 2007), ya que al no existir portadores asintomáticos no existen reservorios del virus durante períodos prolongados y las aves no lo transportan a nuevas regiones; de este modo la disponibilidad de hospederos susceptibles rápidamente se agota debido a la mortandad y el virus se extingue.

Un VIAAP que ha causado varias muertes en humanos y ha tenido un impacto devastador en la industria avícola es el H5N1, que apareciera infectando humanos en Hong Kong en 1997 (Chan, 2002). Esta cepa es altamente patógena para gallináceas, pero tiene una patogenicidad heterogénea en otras especies (Webster *et al.*, 2006). Con anterioridad a la aparición de este VIAAP H5N1, sólo se había documentado un caso de mortalidad masiva de aves silvestres asociado a un VIAAP. Éste ocurrió en gaviotines (*Sterna hirundo*) en Sudáfrica, en 1961 (VIAAP H5N3) (Becker, 1966). Sin embargo, en esa ocasión el virus no se propagó a otras áreas ni especies, ni persistió en la naturaleza.

El H5N1 asiático comenzó a romper las reglas

Hasta hace poco, los VIAAP habían sido aislados sólo esporádicamente en aves silvestres (Sturm-Ramirez *et al.*, 2004; Dierauf *et al.*, 2006). Resultados de vigilancia epidemiológica en aves domésticas en China demuestran que el H5N1 había estado circulando entre patos domésticos desde 1999 (Chen *et al.*, 2004). Sin embargo, los reportes de patogenicidad inducida por H5N1 en aves acuáticas recién aparecen a fines del 2002 (Ellis *et al.*, 2004), y a partir de entonces, el VIAAP H5N1 se aisló en varias mortandades en aves migratorias en Asia y Este de Europa (Liu *et al.*, 2005).

El H5N1 ha manifestado comporta-

mientos que han llevado a replantearse el conocimiento existente sobre VIAAP, ellos incluyen:

- Mortandad de aves silvestres no asociadas a brotes en aves de corral (Alexander, 2007).
- Transmisión directa desde aves silvestres a humanos (OMS 2007).
- Transmisión directa desde aves domésticas a aves silvestres migratorias (Webster et al., 2007).
- La replicación viral principal es en epitelio traqueal, sugiriendo una importante transmisión por vía respiratoria (Sturm-Ramirez et al., 2005).
- Gran diversidad en la patogenicidad para aves acuáticas –desde no-patogénica hasta altamente letal.
- Transmisión a carnívoros (félidos y píní-pedos) (Kuiken et al., 2004).
- Desarrollo de endemicidad

A diferencia de los otros VIAAP reportados hasta la fecha, que fueron erradicados o se extinguieron naturalmente poco después de su emergencia, el VIAAP H5N1 ha logrado mantenerse en focos endémicos desde su surgimiento habiendo pasado ya más de una década. En un principio logró mantenerse en el sudeste asiático, donde hizo su aparición, pero luego ha demostrado ser capaz de tornarse endémico en África donde ha permanecido desde su llegada en 2006 (FAO, 2008). Actualmente se teme que el virus se esté volviendo endémico también en Europa central, ya que se han detectado lotes de patos domésticos infectados asintóticamente y se han presentado casos en granjas de aves de corral sin relación con episodios en aves silvestres (FAO, 2007). Es vital determinar qué situaciones favorecen el desarrollo de endemicidad para lograr erradicar al H5N1.

Algunos VIAAP H5N1 han demostrado

infectar asintóticamente a patos de collar y sus derivados domésticos (*Anas platyrhynchos*) y transmitirse desde éstos a otras aves susceptibles (Sturm-Ramirez et al., 2005). Esto sugiere que los patos pueden estar contribuyendo a la endemicidad del VIAAP H5N1 en el sudeste asiático. El punto a dilucidar es si el reservorio son patos domésticos (*Anas platyrhynchos*, de razas como Pekin o Muskovy), especies silvestres (*A. platyrhynchos* silvestre u otros Anatidae), o ambos. Un estudio llevado a cabo en Tailandia demuestra que la distribución de los brotes de VIAAP H5N1 de ese país se concentra en las planicies centrales, donde las arrozceras concentran simultáneamente patos silvestres y patos domésticos que son pastoreados como ganado (Gilbert et al., 2006a). El principal factor de riesgo para la aparición de brotes tanto en patos como en gallinas parece ser la presencia de pastoreo de patos domésticos en las arrozceras, sugiriendo que el VIAAP H5N1 puede estar siendo mantenido en forma endémica por estos patos.

Entre abril y julio del 2005, el VIAAP H5N1 causó mortalidades masivas de anser indio (*Anser indicus*) (gansos migratorios), en las que murieron entre 1500 y 6000 individuos en la Reserva del Lago Qinghai en China (aproximadamente 10% de la población mundial) (Dierauf et al., 2006). La cepa asiática del VIAAP ha demostrado ser altamente patogénica para la gran mayoría de las aves silvestres, documentando mortalidad en 105 de las 116 (90.7%) especies de las que se ha aislado (Wildlife Health Center - USGS, 2008). No obstante, nueva evidencia sugiere que la susceptibilidad depende de la experiencia inmunológica a otros VIA (Kalthoff et al., 2008).

Por el momento se desconoce si las mortalidades causadas por el VIAAP H5N1 están modificando la dinámica de las poblaciones

de aves silvestres afectadas, pero el impacto puede ser considerable, si tenemos en cuenta que el virus redujo a la población mundial de anser indio en gran medida en tan solo unas semanas (ver descripción arriba). También se desconocen una gran cantidad de factores epidemiológicos críticos, como las vías de transmisión de este virus entre especies silvestres, las situaciones ambientales que las favorecen, la magnitud y duración de la eliminación de virus en aves infectadas, qué especies son capaces de infectarse y permanecer como fuente del virus sin enfermar, la capacidad de éstas para transportar el virus grandes distancias, etc. (Liu *et al.*, 2005). La ecoepidemiología de la enfermedad es extremadamente difícil de describir, por las dificultades comunes al estudio epidemiológico en especies silvestres, y porque se trata de especies hospederas sumamente móviles.

El rol de las aves migratorias en la propagación de los VIA

La migración es una estrategia común para las aves que ocupan hábitats con estaciones marcadas, y puede variar desde movimientos locales hasta migraciones intercontinentales. Las aves migratorias, como cualquier otro ser vivo, pueden portar y trasladar agentes patógenos, particularmente aquellos que no afectan substancialmente su salud, ya que esto interferiría con la migración (Hubalek, 2004). Muchos Anseriformes y Charadriiformes realizan migraciones regulares de larga distancia, y en consecuencia tendrían el potencial de distribuir virus de baja patogenicidad entre países y continentes. Las aves que nidifican en una misma región geográfica por lo general siguen rutas migratorias similares. Estas migraciones conectan a varias poblaciones de aves en tiempo y espacio, ya sea en áreas de nidificación comunes, durante la migra-

ción, o en áreas compartidas donde pasan el invierno. Como resultado, estas congregaciones brindan oportunidad para que las aves infectadas transmitan sus patógenos a otras poblaciones que subsecuentemente pueden llevar el virus a una nueva región (Olsen *et al.*, 2006). Sin embargo, existe evidencia de que la infección natural con VIABP estaría asociada a un desempeño migratorio disminuido en cisnes de Bewick (*Cygnus columbianus bewickii*) (van Gils *et al.*, 2007).

Es importante notar que la transmisión de los virus y su propagación geográfica son dependientes de la ecología de los hospederos migrantes. Por ejemplo, las aves migratorias rara vez vuelan el recorrido completo de su ruta entre áreas de nidificación y de invernada, sino que paran frecuentemente en sitios para recuperar energías (por lo general en humedales), y pasan más tiempo comiendo y preparándose para migrar que volando.

La rápida propagación del VIAAP H5N1 hacia el este asiático y Europa en el 2005 y 2006, con aparición de casos en aves silvestres no asociados a brotes en aves domésticas, sugiere que algunas aves migratorias podrían ser parcialmente responsables de este movimiento, al menos en tramos cortos (Normile, 2006). En los episodios de 2005, existe una correlación temporo-espacial entre la propagación de casos hacia occidente y las rutas migratorias de muchos Anatidae de Asia (Gilbert *et al.*, 2006b). Sin embargo, una importante proporción de estos casos fuera del Asia se originaron en el comercio no regulado de aves de corral y fallas en la bioseguridad de las granjas avícolas (ej. el brote en pavos en Inglaterra en febrero de 2007 (DEFRA, 2007)). El VIAAP H5N1 también apareció en África (Alexander, 2007), pero la casi totalidad de los brotes se documentó en aves domésticas, asociados a rutas y centros de alta producción avícola,

sin una relación temporo-espacial con la llegada de aves migratorias provenientes de sitios donde se habían producido casos.

Especies puente y hospederos intermediarios

La mayoría de la transmisión de VIA a otros hospederos (no naturales), incluyendo mamíferos, es transitoria, y raramente se establecen linajes estables (Webster *et al.*, 2007). No obstante, con la globalizada industria avícola actual, esto parecería estar cambiando y algunas cepas como el H9N2 y el H3N2 se están volviendo endémicas en gallinas domésticas (Alexander, 2003; Choi *et al.*, 2005).

Otros actores que pueden ser de elevada importancia en la ecoepidemiología de los VIA son las “especies puente”, las cuales son potenciales mediadores del flujo de infección entre hábitats donde se congregan aves migratorias y granjas avícolas o aves de traspatio. De particular interés son especies de aves no migratorias, en general Passeriformes, gaviotas, garzas o palomas que frecuentan comúnmente las adyacencias de establecimientos de producción avícola y los patios de las casas.

Infección en aves domésticas

Los virus Influenza A en las aves de corral domésticas como gallinas, pavos, patos, gansos, perdices, codornices, etc. pueden causar enfermedad leve o grave. Las aves de corral infectadas con subtipos de baja patogenicidad manifiestan signos clínicos leves o incluso la infección puede pasar desapercibida (Alexander, 2007). Por el contrario los subtipos de alta patogenicidad producen cuadros severos, llegando a matar el 100% de los animales (Swayne & Pantin-Jackwood, 2006).

Los VIAAP para las aves domésticas identificados hasta ahora han sido solamente los subtipos H5 o H7, sin embargo es preciso

remarcar que no todos los virus H5 o H7 son de alta patogenicidad.

En líneas generales, los cambios del genoma de los VIA son los que influyen su epidemiología (García-García & Ramos, 2006). Existen varios mecanismos por los cuales un VIAAP surgiría en aves de corral. Por un lado, las aves silvestres podrían transmitir un VIABP a las aves de corral a través de especies puente o por contacto directo en hábitats compartidos (ej. producción avícola extensiva en arrozceras en Asia) o en mercados de aves vivas (también comunes en Asia). Una vez que infecta las aves de granja, el VIA encuentra una gran cantidad de hospederos susceptibles, lo que favorece su rápida replicación, la aparición de “errores” y su transformación a formas de alta patogenicidad (Smith *et al.*, 2006). Por otro lado, como se ha estado observando recientemente en la propagación del virus del Sudeste asiático hacia occidente, algunas aves silvestres podrían estar transmitiendo directamente el VIAAP a las aves domésticas (Webster *et al.*, 2006). En Europa, el interés del público por el bienestar animal ha provocado que muchas granjas avícolas tengan a sus aves al aire libre y así venden un producto ‘*free-range*’ que tiene un rédito adicional en el mercado. A partir de la aparición de brotes de influenza aviar en Europa, muchos países prohibieron la crianza de gallinas a cielo abierto y las confinaron en galpones totalmente cerrados, aislados de cualquier contacto con aves silvestres (*‘blackout housing*’). Esta medida es un ejemplo simple de una acción efectiva para reducir los riesgos de transmisión de enfermedades entre especies silvestres y domésticas, mediante la disminución del contacto entre especies. Otro ejemplo concreto fue el cierre de los mercados minoristas de Hong Kong, en el que sólo un día al mes fue efectivo para reducir la prevalencia del VIA H9N2 en

aves de granja de dichos mercados (Karesh *et al.*, 2005). Asimismo, sin recurrir a la vacunación, Tailandia logró mantener granjas libres sólo estableciendo estrictas medidas de bioseguridad (Sims, 2007).

Tampoco hay que olvidar el rol importante que puede tener el comercio legal e ilegal de fauna y los mercados en los que se mezclan especies domésticas y silvestres, en estrecho contacto con personas (Karesh *et al.*, 2007). Recientemente (8 de febrero de 2008) se reportó la infección con VIAAP H5N1 de un ave paseriforme (*Shama orientalis-Copsychus saularis*) que estaba a la venta en mercados de Hong Kong (ProMED-mail 20080213.0574; <http://www.promedmail.org>). Un ejemplo claro de las consecuencias de este tipo de “mezclas” fue la emergencia del virus del SARS, que en tan sólo 10 meses dio la vuelta al mundo, e infectó a más de 8000 personas en 32 países. Invertir esfuerzos en los mercados de animales vivos para regular, reducir e incluso eliminar el contacto entre especies silvestres y domésticas es una de las formas más efectivas y económicas de reducir los riesgos de aparición de enfermedades que pueden impactar tanto a las personas como a los animales domésticos y silvestres (Karesh *et al.*, 2005; Karesh *et al.*, 2007).

Los episodios recientes de mortandades de aves domésticas por VIAAP no se circunscriben al H5N1. En el 2003, más de 25 millones de aves fueron sacrificadas debido a 241 brotes producidos por el VIAAP H7N7 en Holanda (Alexander, 2007). Este virus posteriormente se expandió hacia Bélgica y Alemania. En el 2003 y 2004, el VIAAP H7N3 provocó mortalidades en gallinas de Pakistán, donde ya había sido documentado en 1995 (Alexander, 2007). En el Nuevo Mundo, recientes brotes en aves domésticas producidos por VIAAP fueron reportados en Chile en 2002 (H7N3); Canadá en 2004

(H7N3); y EEUU en 2004 (H5N2) (Werner, 2006). Recientemente se han reportado dos eventos: un nuevo brote de VIAAP H7N3 en granjas avícolas de Saskatchewan, Canadá desde fines de septiembre de 2007 (ProMED-Mail 20070928.3210; <http://www.promedmail.org>); y un brote producido por VIAAP H7N7 en granjas avícolas de Inglaterra (ProMED-Mail 20080606.1802; <http://www.promedmail.org>)

Probabilidad de que el VIAAP H5N1 asiático llegue al Continente

Americano vía aves migratorias

Hacia mediados del 2005, se especuló con que el VIAAP H5N1 podría transferirse desde las aves infectadas endémicamente y que estos focos endémicos podrían generar continuas re-infecciones y de este modo contribuir a la propagación de la enfermedad a otras partes de Asia y Europa, el medio Oriente y África, e inclusive a América. Promediando el 2006, el virus había sido detectado en 24 países a lo largo de Asia y Europa, y en 3 países africanos (Alexander, 2007). Esto ha demostrado la rápida expansión geográfica de la enfermedad, extendiéndose desde el este y sudeste asiático a otros países en dirección occidental.

En teoría, la ruta de migración desde Siberia oriental hacia Alaska, o las rutas desde Islandia vía Groenlandia hacia el norte de Canadá podrían conducir a la introducción del virus en el continente americano (Peterson *et al.*, 2007). Una vez en las áreas árticas de América, se ha postulado que el VIAAP H5N1 sería capaz de seguir las rutas migratorias de norte a sur, extendiéndose a través del Continente Americano, desde el Ártico a Tierra del Fuego. Sin embargo, algunas realidades sugieren que esta probabilidad es baja:

1) Los VIA se subdividen en dos linajes filogenéticos, uno americano y otro eurásico (Olsen *et al.*, 2006), lo que indica que existe una clara separación en la circulación del virus entre ambas masas continentales. Esto es evidencia de un aislamiento geográfico y ecológico prolongado que facilitó una divergencia evolutiva en los 'pools' genéticos.

2) Si bien existen algunas especies migratorias capaces de actuar como puentes intercontinentales que permitirían intercambios ocasionales de segmentos de genes entre ambos 'pools' genéticos (Peterson *et al.*, 2007), el VIAAP H5N1 asiático produce enfermedad y/o muerte en la mayoría de las especies hospederas (Perkins & Swayne, 2003), y en consecuencia, estos altos grados de morbilidad y mortalidad obstaculizan la migración. Dada la escasa cantidad de especies migratorias que se mueven entre los hemisferios occidental y oriental, la probabilidad de que H5N1 ingrese a las Américas por rutas migratorias normales es muy baja.

3) Los datos de vigilancia epidemiológica extensiva en regiones de llegada de aves migratorias desde Asia a América del Norte demuestran una prevalencia muy baja de VIA (0.06%) (Winker *et al.*, 2007), y los análisis genéticos de los aislamientos demuestran una virtual ausencia de virus provenientes de linajes de Eurasia (Krauss *et al.*, 2007).

4) En las Américas, la propagación hacia el sur por aves migratorias es poco probable, dado que el VIAAP H5N1 es aparentemente mantenido por patos, y en general existe poca conectividad entre las especies de anátidos del norte y del sur, y la mayoría de las especies permanecen en su propio continente cada año (Del Hoyo *et al.*, 1992). La excep-

ción es el pato medialuna (*Anas discors*) que tienen una distribución invernal que incluye el norte de Sudamérica.

Sin embargo, la posibilidad de que el virus ingrese y persista de forma endémica en el Nuevo Mundo no debe descartarse, ya que un estudio reciente logró la infección experimental por VIAAP H5N1 en tres especies de patos norteamericanos (*A. platyrhynchos*, *Anas crecca*, *Anas acuta* y *Aythya americana*) sin producirse enfermedad o muerte, aunque el virus sólo se aisló de ellos por poco tiempo (1-4 días) (Brown *et al.*, 2006). Un experimento posterior, demostró los cisnes mudos (*Cignus olor*) pueden eliminar el virus en altas concentraciones y por un tiempo considerable, pero estos cisnes no migran y no tienen distribución en Sudamérica (Brown *et al.*, 2008).

Probabilidad de que el VIAAP H5N1 asiático llegue al Continente Americano vía comercio de aves silvestres y domésticas

Existen otras vías por las cuales la cepa asiática del VIAAP H5N1 podría ingresar al continente, y la mayoría de ellas involucran a las personas. Algunos ejemplos serían la importación de aves o sus productos desde países que no han detectado o no han denunciado la presencia del VIAAP H5N1, las importaciones ilegales de aves silvestres o domésticas que evitan los controles fronterizos y no realizan cuarentenas, la falta de controles de bioseguridad e higiene adecuados en el movimiento de personas, vehículos, insumos y desechos entre granjas avícolas, los viajes internacionales de personas infectadas por el virus e incluso introducciones intencionales de virus a zonas libres (Dierauf *et al.*, 2006; Rappole & Hubálek, 2006;

Karesh *et al.*, 2007). A pesar de los estrictos controles impuestos en Europa, en el 2005 se aisló el VIAAP H5N1 de dos águilas de montaña (*Spizaetus nipalensis*) importadas ilegalmente desde Tailandia hasta Bélgica en un equipaje aéreo de mano (Van Borm *et al.*, 2005) y, más tarde, ese mismo año, se produjo un hallazgo similar en el Reino Unido, con un envío de aves silvestres destinados al comercio de mascotas (Alexander, 2007).

Hasta la fecha el VIAAP H5N1 asiático no ha sido detectado en el Nuevo Mundo. Todos los brotes de VIAAP antes mencionados para las Américas se circunscribieron a granjas y en ningún caso se detectó propagación inmediata a aves silvestres. Sin embargo, un virus H7N3 filogenéticamente relacionado con el que causara el brote del 2002 en Chile fue aislado en una cerceta colorada (*Anas cyanoptera*) en Bolivia en 2001 (Spackman *et al.*, 2006). Lamentablemente, se conoce muy poco sobre la actividad de virus IA en Sudamérica, ya que hasta el presente los datos de vigilancia han sido mínimos (Escudero *et al.*, 2008). Se espera que con el programa 'Red Mundial de Vigilancia Epidemiológica de Influenza Aviar en Aves Silvestres' (GAINS; www.gains.org), que se está llevando a cabo en varios países de Sudamérica y con los esfuerzos recientes de vigilancia en todos los países de sudamericanos, se cuente con información vital para ampliar nuestro conocimiento sobre la ecoepidemiología de VIA en nuestra región.

Si ocurriera el ingreso del VIAAP H5N1 a Norteamérica por medio de aves migratorias, la mejor forma de detectarlo tempranamente sería a través de la vigilancia epidemiológica de aves acuáticas, principalmente en aquellos sitios donde las aves americanas y asiáticas comparten el hábitat. Al mismo tiempo, podría lograrse un alerta temprano mediante investigaciones minuciosas de todo brote de enfermedad o evento de mortalidad

tanto en aves silvestres como domésticas. Vale recalcar que si bien las estaciones del año en que las aves silvestres realizan sus migraciones se encuentran bien definidas, la introducción de origen antrópico podría ocurrir en cualquier momento por lo que las acciones de vigilancia deben ser permanentes y, obviamente, deben acompañarse por estrictos controles fronterizos del tráfico de animales y sus subproductos.

La vigilancia activa aporta información crítica sobre los virus presentes en las aves silvestres locales, ya que el conocimiento de las cepas virales circulantes en la naturaleza nos ayuda a estar mejor preparados ante posibles cambios de patogenicidad, además de ser de gran utilidad para identificar escenarios de alto riesgo (por ejemplo, humedales con patos positivos cerca de granjas avícolas comerciales). Una estrategia de vigilancia relativamente económica y eficiente es la vigilancia pasiva efectiva (investigación en profundidad de cada evento de mortalidad de aves). Esto es especialmente cierto para patógenos que causan alta mortalidad, como el VIAAP H5N1, el que ha sido detectado por primera vez en muchos países de Europa gracias a este tipo de vigilancia.

CONSIDERACIONES BÁSICAS DE MANEJO

Aunque en la actualidad desconocemos muchos factores que influyen la ecoepidemiología de los VIAAP, resulta claro que el aislamiento de las aves de granja y sus subproductos de las silvestres es una acción de manejo crítica e indispensable. Es importante extremar las medidas de seguridad en las granjas, manteniendo a las aves en recintos cerrados y a los equipamientos, las jaulas, vehículos, vestimenta y botas limpios y desinfectados. También se recomienda limitar

el acceso de personas a las granjas avícolas, observando estrictas normas de seguridad e higiene, incluyendo el destino y tratamiento apropiado de los desechos de granja.

En relación a las aves acuáticas silvestres, se recomienda evitar el contacto innecesario con las personas, mantener prácticas de higiene adecuadas si se las manipula, evitar recoger aves enfermas o muertas sin la protección personal adecuada y denunciar de forma inmediata ante las autoridades sanitarias correspondientes el hallazgo de aves enfermas o muertas. Este tipo de prácticas sencillas ayudarán a limitar el contacto entre aves domésticas y silvestres y la convivencia de virus de especies domésticas y silvestres (Dierauf *et al.*, 2006) evitando crear condiciones favorables para el desarrollo de VIAAP.

Hacia el futuro

Por el momento la información científica sobre la transmisión del VIAAP H5N1 en aves silvestres es limitada. Es necesario investigar en profundidad aspectos elementales de la ecoepidemiología del VIAAP H5N1, que permitan identificar especies susceptibles y reservorios, su respuesta a la infección, duración de la infección, vías de excreción viral y duración de la misma, persistencia del virus en el ambiente, etc. Dada la magnitud de esta tarea, es importante y fundamental pensar en la necesidad de colaboración internacional, trabajando estrechamente y compartiendo información. La Red Mundial para la Vigilancia de Influenza Aviar en Aves Silvestres, GAINS, es un ejemplo de cooperación internacional e interinstitucional con el objetivo de ampliar las capacidades operativas y el conocimiento sobre la distribución y abundancia de las distintas cepas virales de influenza aviar, y

de sus mecanismos de transmisión; además de transmitir esta información a gobiernos, organismos internacionales, entidades asociadas y al sector privado de manera eficiente. Del mismo modo, otras entidades gubernamentales, centros de investigación y organizaciones no gubernamentales deben aunar sus esfuerzos y trabajar mancomunadamente para incrementar los conocimientos sobre esta enfermedad e implementar medidas de alerta temprana y prevención. La información compartida y las acciones conjuntas y coordinadas son una necesidad concreta y actual para que los países de la región estén preparados si el VIAAP H5N1 es eventualmente introducido en América, y para comprender y anticipar el surgimiento de otros VIAAP en el continente.

BIBLIOGRAFÍA

- ABOLNIK, C.** 2007. Detection of a North American lineage H5 avian influenza virus in a South African wild duck. *Onderstepoort J.Vet.Res.* 74: 177-180.
- ALEXANDER, D. J.** 2003. Report on avian influenza in the Eastern Hemisphere during 1997-2002. *Avian Dis.* 47: 792-797.
- ALEXANDER, D. J.** 2007. Summary of avian influenza activity in Europe, Asia, Africa, and Australasia, 2002-2006. *Avian Dis.* 51: 161-166.
- BECKER, W. B.** 1966. The isolation and classification of Tern virus: influenza A-Tern South Africa—1961. *J.Hyg.(Lond)* 64: 309-320.
- BEGON, M.; TOWNSEND, C. R. & HARPER, J. L.** 2006. *Ecology: From Individuals to Ecosystems.* Blackwell Publishing 4: 1-738.
- BELDOMENICO, P. M.** 2006. Medicina y animales silvestres: desafío para las ciencias veterinarias en el siglo XXI. *Revista FAVE - Ciencias Veterinarias* 5: 7-20.

- BELDOMENICO, P.** 2007. Infection and host population dynamics: the use and assessment of generic indices of health. PhD Thesis. University of Liverpool
- BROWN, J.; STALLKNECHT, D. E.; BECK, J.R.; SUAREZ, D. L. & SWAYNE, D.E.** 2006. Susceptibility of North American ducks and gulls to H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses. *Emerg.Infect.Dis.* 12: 1663-1670.
- BROWN, J. D.; SWAYNE, D. E.; COOPER, R. J.; BURNS, R. E. & STALLKNECHT, D.E.** 2007. Persistence of H5 and H7 avian influenza viruses in water. *Avian Dis.* 51: 285-289.
- BROWN, J.; STALLKNECHT, D.E. & SWAYNE, D. E.** 2008. Experimental infection of swans and geese with highly pathogenic avian influenza virus (H5N1) of Asian lineage. *Emerg.Infect.Dis* 14: 136-142.
- CHAN, P. K.** 2002. Outbreak of avian influenza A(H5N1) virus infection in Hong Kong in 1997. *Clin.Infect.Dis.* 34 Suppl 2: S58-S64.
- CHEN, H.; DENG, G.; LI, Z.; TIAN, G.; LI, Y.; JIAO, P.; ZHANG, L.; LIU, Z.; WEBSTER, R.G. & YU, K.** 2004. The evolution of H5N1 influenza viruses in ducks in southern China. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 101: 10452-10457.
- CHOI, Y. K.; SEO, S.H.; KIM, J. A.; WEBBY, R. J. & WEBSTER, R.G.** 2005. Avian influenza viruses in Korean live poultry markets and their pathogenic potential. *Virology* 332: 529-537.
- COX, N. J.; FULLER, F. & KAVERIN, N.** 2000. Orthomyxoviridae. (pp. 585-597). En: VAN REGENMORTEL, M.; FAUQUET, C. & BISHOP, D. *Virus taxonomy; seventh report of the international committee on taxonomy of viruses.* Academic Press.
- DEFRA.** 2007. Outbreak of highly pathogenic H5N1 Avian Influenza in Suffolk in January 2007. A report of the epidemiological findings by the National Emergency Epidemiology Group, Defra 5 April 2007. http://www.defra.gov.uk/animalh/diseases/notifiable/disease/ai/pdf/epid_findings050407.pdf
- DEL HOYO, J.; ELLIOT, A. & SARGATAL, J.** 1992. Handbook of the birds of the world. Vol. 1. Lynx Edicions. 696pp.
- DIERAUF, L.A.; KARESH, W.B.; IP, H.S.; GILARDI, K.V. & FISCHER, J.R.** 2006. Avian influenza virus and free-ranging wild birds. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 228: 1877-1882.
- ELLIS, T. M.; BOUSFIELD, R. B.; BISSETT, L. A.; DYRTING, K. C.; LUK, G. S.; TSIM, S. T.; STURM-RAMIREZ, K.; WEBSTER, R. G.; GUAN, Y. & MALIK PEIRIS, J. S.** 2004. Investigation of outbreaks of highly pathogenic H5N1 avian influenza in waterfowl and wild birds in Hong Kong in late 2002. *Avian Pathol.* 33: 492-505.
- ESCUADERO, G.; MUNSTER, V.J. & BERTELLOTTI, M.** 2008. Perpetuation of avian influenza in the Americas: Examining the role of shorebirds in Patagonia. *The Auk* 125: 494-495
- FAO.** 2007. Bird flu virus in Europe - a hidden danger. <http://www.fao.org/newsroom/en/news/2007/1000685/index.html>
- FAO.** 2008. Overview of the HPAI (H5N1) situation in the world. <http://www.fao.org/avianflu/en/index.html>
- GARAMSZEGLI, L. & MÖLLER, A.** 2007. Prevalence of avian influenza and host ecology. *Proc.R.Soc.B* 274: 2003-2012.
- GARCIA-GARCIA, J. & RAMOS, C.** 2006. [Influenza, an existing public health problem]. *Salud Publica Mex.* 48: 244-267.
- GILBERT, M.; CHAITAWESUB, P.; PAKAMAWONGSA, T.; PREMASH-THIRA, S.; TIENSIN, T.; KALPRAVIDH, W.; WAGNER, H. & SLINGENBERGH, J.** 2006a. Free-grazing ducks and highly pathogenic avian influenza, Thailand. *Emerg.*

- Infect.Dis. 12: 227-234.
- GILBERT, M.; XIAO, X.; DOMENECH, J.; LUBROTH, J.; MARTIN, V. & SLINGEN-BERGH, J.** 2006b. Anatidae migration in the western Palearctic and spread of highly pathogenic avian influenza H5N1 virus. *Emerg.Infect.Dis.* 12: 1650-1656.
- GORMAN, O. T.; BEAN, W. J. & WEBSTER, R. G.** 1992. Evolutionary processes in influenza viruses: divergence, rapid evolution and stasis. *Curr.Top.Microbiol.Immunol.* 176: 75-97.
- HUBALEK, Z.** 2004. An annotated checklist of pathogenic microorganisms associated with migratory birds. *J.Wildl.Dis.* 40: 639-659.
- KALTHOFF, D.; BREITHAUP, A.; TEIFFKE, J.P.; GLOBIG, A.; HARDER, T.; METTENLEITER, T.C. & BEER, M.** 2008. Highly Pathogenic Avian Influenza Virus (H5N1) in experimentally infected adult mute swans. *Emerg.Infect.Dis.* 14: 1267-1270.
- KARESH, W.B.; COOK, R.A.; BENNETT, E.L. & NEWCOMB, J.** 2005. Wildlife trade and global disease emergence. *Emerg.Infect.Dis.* 11: 1000-1002.
- KARESH, W.B.; COOK, R.A.; GILBERT, M. & NEWCOMB, J.** 2007. Implication of wildlife trade on the movement of avian influenza and other infectious diseases. *J.Wildl.Dis.* 43 (Suppl.): S55-S59.
- KRAUSS, S.; WALKER, D.; PRYOR, S.P.; NILES, L.; CHENCHONG, L.; HINSHAW, V. S. & WEBSTER, R.G.** 2004. Influenza Aviruses of migrating wild aquatic birds in North America. *Vector-Borne Zoon.Dis.* 4: 177-190.
- KRAUSS, S.; OBERT, C.A.; FRANKS, J.; WALKER, D.; JONES, K.; SEILER, P.; NILES, L.; PRYOR, S.P.; OBENAUER, J.C.; NAEVE, C.W.; WIDJAJA, L.; WEBBY, R.J. & WEBSTER, R.G.** 2007. Influenza in Migratory Birds and Evidence of Limited Intercontinental Virus Exchange. *PLoS.Pathog.* 3: e167-
- KUIKEN, T.; RIMMELZWAAN, G.; VAN RIEL, D.; VAN AMERONGEN, G.; BAARS, M.; FOUCHIER, R. & OSTERHAUS, A.** 2004. Avian H5N1 influenza in cats. *Science* 306: 241.
- LAST, J.** 1988. *A dictionary of Epidemiology.* 2ª Edición. Oxford University Press. 141pp.
- LIU, J.; XIAO, H.; LEI, F.; ZHU, Q.; QIN, K.; ZHANG, X.W.; ZHANG, X.L.; ZHAO, D.; WANG, G.; FENG, Y.; MA, J.; LIU, W.; WANG, J. & GAO, G.F.** 2005. Highly pathogenic H5N1 influenza virus infection in migratory birds. *Science* 309: 1206.
- MAKAROVA, N.V.; KAVERIN, N.V.; KRAUSS, S.; SENNE, D. & WEBSTER, R.G.** 1999. Transmission of Eurasian avian H2 influenza virus to shorebirds in North America. *J.Gen.Virol.* 80 (Pt 12): 3167-3171.
- MUNSTER, V.J.; BAAS, C.; LEXMOND, P.; WALDENSTROM, J.; WALLENSTEN, A.; FRANSSON, T.; RIMMELZWAAN, G.F.; BEYER, W.E.; SCHUTTEN, M.; OLSEN, B.; OSTERHAUS, A.D. & FOUCHIER, R.A.** 2007. Spatial, temporal, and species variation in prevalence of influenza A viruses in wild migratory birds. *PLoS.Pathog.* 3: e61.
- NORMILE, D.** 2006. Avian influenza. Evidence points to migratory birds in H5N1 spread. *Science* 311: 1225.
- OLSEN, B.; MUNSTER, V.J.; WALLENSTEN, A.; WALDENSTROM, J.; OSTERHAUS, A.D. & FOUCHIER, R.A.** 2006. Global patterns of influenza a virus in wild birds. *Science* 312: 384-388.
- OMS.** 2007. Update: WHO-confirmed human cases of avian influenza A(H5N1) infection, 25 November 2003– 24 November 2006. *Weekly Epidemiological Report (WHO)* 82: 41-48.
- PEREDA, A.J.; UHART, M.; PEREZ, A.A.; ZACCAGNINI, M.E.; LA SALA, L.;**

- DECARRE, J. GOIJMAN, A.; SOLARI, L.; SUAREZ, R.; CRAIG, M.I.; VAGNOZZI, A.; RIMONDI, A. KÖNIG, G.; TERRERA, M.V.; KALOGHLIAN, A.; SONG, H.; SORRELL, E.M. & PEREZ, D.R.** 2008. Avian influenza virus isolated in wild waterfowl in Argentina: evidence of a potentially unique phylogenetic lineage in South America. *Virology* - en prensa.
- PERKINS, L.E. & SWAYNE, D.E.** 2003. Comparative susceptibility of selected avian and mammalian species to a Hong Kong-origin H5N1 high-pathogenicity avian influenza virus. *Avian Dis.* 47: 956-967.
- PETERSON, A.T.; BENZ, B.W. & PAPES, M.** 2007. Highly pathogenic H5N1 avian influenza: entry pathways into North America via bird migration. *PLoS ONE*. 2: e261.
- RAPPOLE, J.H. & HUBÁLEK, Z.** 2006. Birds and influenza H5N1 virus movement to and within North America. *Emerg. Infect. Dis.* 12: 1486 - 1492.
- SIMS, L.D.** 2007. Lessons learned from Asian H5N1 outbreak control. *Avian Dis.* 51: 174-181.
- SMITH, G.J.; NAIPOSPOS, T.S.; NGUYEN, T.D.; DE JONG, M.D.; VIJAYKRISHNA, D.; USMAN, T.B.; HASSAN, S.S.; NGUYEN, T.V.; DAO, T.V.; BUI, N.A.; LEUNG, Y.H.; CHEUNG, C.L.; RAYNER, J.M.; ZHANG, J.X.; ZHANG, L.J.; POON, L.L.; LI, K.S.; NGUYEN, V.C.; HIEN, T.T.; FARRAR, J.; WEBSTER, R.G.; CHEN, H.; PEIRIS, J.S. & GUAN, Y.** 2006. Evolution and adaptation of H5N1 influenza virus in avian and human hosts in Indonesia and Vietnam. *Virology* 350: 258-268.
- SPACKMAN, E.; MCCRACKEN, K.G.; WINKER, K. & SWAYNE, D.E.** 2006. H7N3 avian influenza virus found in a South American wild duck is related to the Chilean 2002 poultry outbreak, contains genes from equine and North American wild bird lineages, and is adapted to domestic turkeys. *J. Virol.* 80: 7760-7764.
- SPACKMAN, E.; STALLKNECHT, D.E.; SLEMONS, R.D.; WINKER, K.; SUAREZ, D.L.; SCOTT, M. & SWAYNE, D.E.** 2005. Phylogenetic analyses of type A influenza genes in natural reservoir species in North America reveals genetic variation. *Virus Res.* 114: 89-100.
- STALLKNECHT, D.E.; KEARNEY, M.T.; SHANE, S.M. & ZWANK, P.J.** 1990. Effects of pH, temperature, and salinity on persistence of avian influenza viruses in water. *Avian Dis.* 34: 412-418.
- STURM-RAMIREZ, K.M.; ELLIS, T.; BOUSFIELD, B.; BISSETT, L.; DYRTING, K.; REHG, J. E.; POON, L.; GUAN, Y.; PEIRIS, M. & WEBSTER, R.G.** 2004. Reemerging H5N1 influenza viruses in Hong Kong in 2002 are highly pathogenic to ducks. *J. Virol.* 78: 4892-4901.
- STURM-RAMIREZ, K.M.; GOVORKOVA, E.A.; HUMBERD, J.; SEILER, P.; PUTHAVATHANA, P.; BURANATHAI, C.; NGUYEN, T.D.; CHAISINGH, A.; LONG, H.T.; NAIPOSPOS, T.S.; CHEN, H.; ELLIS, T.M.; GUAN, Y.; PEIRIS, J.S. & WEBSTER, R.G.** 2005. Are ducks contributing to the endemicity of highly pathogenic H5N1 influenza virus in Asia? *J. Virol.* 79: 11269-11279.
- SWAYNE, D.E. & PANTIN-JACKWOOD, M.** 2006. Pathogenicity of avian influenza viruses in poultry. *Dev. Biol. (Basel)* 124: 61-67.
- USDA.** 2007. Low pathogenic "North American" H5N1 Avian Influenza Strain in wild birds - presumptive and confirmed test results. <http://wildlifedisease.nh.gov/ai/LPAITable.pdf>
- VAN BORM, S.; THOMAS, I.; HANQUET, G.; LAMBRECHT, B.; BOSCHMANS, M.; DUPONT, G.; DECAESTECKER, M.; SNACKEN, R. & VAN DEN, B.T.**

2005. Highly pathogenic H5N1 influenza virus in smuggled Thai eagles, Belgium. *Emerg.Infect.Dis.* 11: 702-705.
- VAN GILS, J.A.; MUNSTER, V.J.; RADERSMA, R.; LIEFHEBBER, D.; FOUCHIER, R.A. & KLAASSEN, M.** 2007. Hampered foraging and migratory performance in swans infected with low-pathogenic avian influenza A virus. *PLoS ONE*. 2: e184.
- WALLENSTEN, A.; MUNSTER, V. J.; ELMBERG, J.; OSTERHAUS, A.D.; FOUCHIER, R.A. & OLSEN, B.** 2005. Multiple gene segment reassortment between Eurasian and American lineages of influenza A virus (H6N2) in Guillemot (*Uria aalge*). *Arch.Virol.* 150: 1685-1692.
- WEBSTER, R.G.** 1978. Intestinal influenza: replication and characterization of influenza viruses in ducks. *Virology* 84: 268-278.
- WEBSTER, R.G.; BEAN, W.J.; GORMAN, O.T.; CHAMBERS, T.M. & KAWAOKA, Y.** 1992. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol.Rev.* 56: 152-179.
- WEBSTER, R.G.; KRAUSS, S.; HULSEPOST, D. & STURM-RAMIREZ, K.** 2007. Evolution of Influenza viruses in wild birds. *J.Wildl.Dis.* 43 (Suppl.): S1-S6.
- WEBSTER, R.G.; PEIRIS, M.; CHEN, H. & GUAN, Y.** 2006. H5N1 outbreaks and enzootic influenza. *Emerg.Infect.Dis.* 12: 3-8.
- WERNER, O.** 2006. [Highly pathogenic avian influenza—a review]. *Berl Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 119: 140-150.
- WIDJAJA, L.; KRAUSS, S.L.; WEBBY, R.J.; XIE, T. & WEBSTER, R.G.** 2004. Matrix gene of influenza A viruses isolated from wild aquatic birds: ecology and emergence of influenza A viruses. *J.Virol.* 78: 8771-8779.
- WILDLIFE HEALTH CENTER - USGS** 2008. List of Species Affected by H5N1 (Avian Influenza). http://www.nwhc.usgs.gov/disease_information/avian_influenza/affected_species_chart.jsp
- WINKER, K.; MCCracken, K.G.; GIBSON, D.D.; PRUETT, C.L.; MEIER, R.; HUETTSMANN, F.; WEGE, M.; KULIKOVA, I.V.; ZHURAVLEV, Y.N.; PERDUE, M.L.; SPACKMAN, E.; SUAREZ, D.L. & SWAYNE, D.E.** 2007. Movements of birds and avian influenza from Asia into Alaska. *Emerg.Infect.Dis.* 13: 547-552.