

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA

**EVOLUCIÓN ENTRE LAS CEPAS DEL VIRUS DE INFLUENZA
AVIAR TIPO A H5N2 AISLADAS DE AVES VACUNADAS QUE
PRESENTARON LA FORMA CLÍNICA DE LA ENFERMEDAD EN
MÉXICO**

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA
PRESENTA
MARÍA DE LOURDES VÁZQUEZ HERNÁNDEZ

Asesores:

M.V.Z Magdalena Escorcia Martínez

M.C. Andrea Rodríguez Ropón

México, D.F.

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CONTENIDO

| | Página |
|-------------------------|--------|
| RESUMEN..... | 1 |
| INTRODUCCIÓN..... | 2 |
| HIPÓTESIS..... | 7 |
| MATERIAL Y MÉTODOS..... | 8 |
| RESULTADOS..... | 11 |
| DISCUSIÓN..... | 13 |
| REFERENCIAS..... | 17 |
| FIGURAS..... | 21 |
| CUADROS..... | 34 |

RESUMEN

VÁZQUEZ HERNÁNDEZ MARÍA DE LOURDES. Evolución entre las cepas del virus de Influenza Aviar tipo A H5N2 aisladas de aves vacunadas que presentaron la forma clínica de la enfermedad en México Bajo la dirección de: M.V.Z. Magdalena Escorcía Martínez y M.C. Andrea Rodríguez Ropón)

El genoma segmentado del virus de Influenza Aviar y la propensión de error de la ARN polimerasa durante la replicación viral contribuyen a la mutación de la proteína hemoaglutinina. Con el objetivo de determinar cambios en la información genética se realizó el estudio filogenético y la determinación del porcentaje de homología de las secuencias de nucleótidos y aminoácidos del segmento de 812 pares de bases del gen del sitio de corte de la hemoaglutinina de 18 cepas de campo, de este virus endémico de México, aisladas en el periodo 2002-2006 con respecto a la cepa de 1994, AY497063 A/Chicken/Hidalgo/232/94 HA. En el análisis de las secuencias de nucleótidos, se determinó la existencia de dos grupos genéticos, uno integrado por la cepa de 1994 y el otro por los 18 aislamientos de campo. En el análisis de las secuencias de aminoácidos también se constituyeron dos grupos genéticos, uno formado por las cepas M7.seq, M20.seq, M01-06.seq y la cepa de 1994, y el segundo por las cepas de campo restantes. El porcentaje de homología de las secuencias de nucleótidos y de aminoácidos entre las mismas cepas fue del 89.2 al 99.9 % y del 6.2 al 100%, respectivamente. Los resultados obtenidos sugieren la existencia de cambios genéticos en la hemoaglutinina, entre las cepas del periodo 2002-2006 con respecto a la cepa vacunal de 1994.

INTRODUCCIÓN

La Influenza Aviar (IA) es una enfermedad infecto-contagiosa ocasionada por un virus que infecta a las aves domésticas y silvestres, mamíferos como el humano, el caballo, el cerdo, el mink, además de mamíferos marinos como ballenas y focas. El virus de IA pertenece a la familia *Orthomyxoviridae*, género *Influenzavirus A*; es un virus envuelto y su genoma está compuesto por 8 segmentos de ácido ribonucleico (ARN) de sentido negativo que codifican para 8 proteínas estructurales: las glucoproteínas de superficie hemoaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA); la nucleoproteína (NP), las proteínas de matriz (M): 1 (M1) y 2 (M2); las proteínas del complejo polimerasa PA, PB1 y PB2; y para 2 proteínas no estructurales (NS): (NS1) y (NS2) **(1)**. Este virus se clasifica en subtipos con base en las glucoproteínas de superficie HA y NA; actualmente se han identificado 16 subtipos de HA y 9 subtipos de NA, de cuya combinación resultan 144 subtipos de virus de IA **(2, 3)**. Adicionalmente, se clasifica en Alta Patogenicidad (AP) y Baja Patogenicidad (BP) con base en la signología que produce en las aves que infecta, y en varias pruebas de laboratorio *in vitro* e *in vivo* que incluyen el porcentaje de mortalidad en pollos de 4 a 8 semanas de edad inoculados por vía intramuscular, intravenosa o en el saco aéreo caudal; el índice de patogenicidad intravenosa (IPIV) en pollos de 6 semanas de edad; el crecimiento en cultivo de fibroblastos de embrión de pollo con la formación de placas en ausencia de tripsina y la secuencia de aminoácidos en el sitio de corte de la HA **(3)**. La HA es un componente de importancia en la patogenicidad viral ya que permite la unión entre la membrana celular y la envoltura viral, fenómeno que da como

consecuencia la infección de la célula y la replicación viral en determinados tejidos del organismo. Los virus de IA de BP generalmente presentan aminoácidos ácidos en el sitio de corte de la HA, sobre los cuales actúan las enzimas de tipo tripsina que son secretadas por células de los tejidos respiratorio e intestinal, lo que resulta en una infección local, sin embargo, aves infectadas con virus de IA de BP pueden presentar signos clínicos exacerbados en caso de complicación bacteriana por los géneros *Streptococcus sp.* y *Staphylococcus sp.* Las enzimas de estas bacterias actúan en el sitio de corte de la HA y la dividen en las subunidades HA1 y HA2, y facilitan la infección y replicación del virus en el organismo infectado. Por otro lado, los virus de IA de AP poseen aminoácidos básicos en el sitio de corte de la HA, sobre los que actúan las enzimas de tipo subtilisina como furina y PC6 que son secretadas por las células de varios tejidos del organismo y ello da como resultado la infección sistémica. La mayoría de los virus de influenza tipo A poseen una arginina (Arg) en el grupo carboxilo terminal de la HA1 y una glicina (Gli) en el grupo amino terminal de HA2, los virus de influenza H5, poseen una prolina (Pro) y una glutamina (Glu), arriba del grupo carboxilo terminal de HA1, la cual constituye una región conservada. Entre los residuos de Glu y Gli se encuentra una región denominada péptido de conexión (-Pro-Glu-X-...-X-Arg//Gli-, donde // indica el sitio de corte entre HA1 y HA2 y X representa un aminoácido no básico). Todos los virus de influenza H5 de BP poseen cuatro aminoácidos en el péptido de conexión (A-E-T-A); los de AP contienen B-X-B-A (donde B representa cualquier aminoácido básico) en ausencia del sitio de glicosilación cercano; también será un virus de AP, si el sitio de glicosilación está presente y ocurre la inserción de dos

aminoácidos: X-X-B-X-B-A, o existe una mutación de Pro o Glu por un residuo básico **(4)**.

En los brotes de IA en varias partes del mundo, como Pensilvania en octubre de 1983 y México en diciembre de 1994, se ha destacado la importancia de la determinación de la secuencia de aminoácidos en el sitio de corte de la HA como modo de predecir la patogenicidad de éste virus, ya que, en el caso de los brotes de Pensilvania, las primeras cepas aisladas presentaban 4 aminoácidos básicos en el sitio de corte de la HA, mientras que algunos de los aislamientos posteriores mostraron la sustitución de un aminoácido en el residuo 13 (Tri a Lis) que se cree condujo a la pérdida del sitio de glicosilación cercano al sitio de corte de la HA **(4, 5, 6, 7, 8)**. Por lo que respecta a México, tanto las cepas virales aisladas al principio del brote como al final del mismo, presentaban sustituciones e inserciones de aminoácidos básicos en el sitio de corte de la HA **(4, 5, 6, 7, 8, 9, 10)**. Estos brotes junto con la evidencia experimental han permitido establecer que la división de la HA en las subunidades HA1 y HA2 está determinada principalmente por la secuencia de aminoácidos en el sitio de corte y en menor medida por la ausencia del sitio de glicosilación cercano al mismo **(11)**. Los cambios en la secuencia de aminoácidos en el sitio de corte de la HA de los virus de IA se atribuyen principalmente a la falta de corrección de la ARN polimerasa durante la replicación viral, que seguida de la selección ejercida por la presión inmunológica de virus con hemoaglutininas altamente degradables en las subunidades HA1 y HA2, resulta en errores de 1 por cada 10^4 bases por ciclo de replicación viral. Otros mecanismos de mutación que experimenta el virus de Influenza son la variación antigénica que incluye la deriva y el cambio antigénicos;

y la recombinación genética **(12)**. La primera en los virus de Influenza de mamíferos se origina por la acumulación de puntos de mutación en el dominio antigénico de la proteína HA, lo que resulta en el surgimiento de cambios en la estructura antigénica de ésta proteína **(12, 13)**. El cambio antigénico surge del rearrreglo genético que se presenta por la naturaleza segmentada del genoma del virus de Influenza y la coinfección de una célula por al menos dos virus, de lo cual resultan nuevos virus con un genoma formado por la mezcla de los segmentos de ambos ARN **(14)**. La recombinación genética consiste en la inserción de secuencias de ARN mensajero celular en el gen que codifica para la síntesis de la proteína HA **(15, 16)**. Por lo tanto, en una población donde la IA es endémica, el virus podría mutar de patotipo por cualquiera de los mecanismos antes citados como ha sido sugerido que ocurrió en México en diciembre de 1994, cuando al inicio del brote se detectó un virus de IA H5N2 de BP y posteriormente otro de AP, el cual provocó pérdidas a la avicultura comercial por 49 millones de dólares norteamericanos **(17)**. Para el control y erradicación de este virus de AP, el Gobierno mexicano estableció el Dispositivo Nacional de Emergencia de Sanidad Animal (DINESA) y posteriormente creó una Campaña Nacional contra la Influenza Aviar NOM-044-ZOO-1995, que actualmente se aplica y se basa en varias medidas de bioseguridad, además de la administración de una vacuna inactivada emulsionada elaborada con la cepa A/CK/México/232/94 **(17, 18, 19, 20)**. Finalmente, en junio de 1995, el brote de IA fue controlado y se erradicó, de hecho, el último aislamiento de un virus de IA H5N2 de AP se obtuvo en 1995**(18, 19, 20)**. Actualmente, en el país sólo existe el virus de IA H5N2 de BP **(18, 19, 20)**.

Lee *et al.*, 2005 han sugerido que el virus de IA de BP subtipo H5N2 endémico de México podría experimentar mutación por el mecanismo de deriva antigénica en la población avícola vacunada, por lo tanto, para garantizar una protección vacunal contra las cepas de campo, es necesario emplear éstas como cepas vacunales de influenza cada año **(21)**.

A pesar de efectuar la vacunación, la permanencia del virus de IA en México, muestra la importancia del presente trabajo, cuyo objetivo fue determinar los cambios genéticos que se han generado en la HA de 18 cepas de éste, aisladas en el periodo 2002-2006 a partir de aves vacunadas con la cepa A/CK/México/232/94 que presentaron la forma clínica de la enfermedad, con respecto a la cepa de 1994, AY497063 A/Chicken/Hidalgo/232/94 HA mediante la realización del estudio filogenético y el cálculo del porcentaje de homología de las mismas.

HIPÓTESIS

Sí los virus de Influenza Aviar están sujetos a una tasa de mutación de 2×10^{-3} bases por posición en cada generación viral, entonces dichos virus endémicos de México, representados por 18 cepas virales aisladas en el periodo 2002-2006 en varios estados de la República Mexicana de aves vacunadas con la cepa A/CK/México/232/94 que presentaron la forma clínica de la enfermedad podrían tener cambios importantes en su información genética con respecto a la cepa vacunal de 1994.

MATERIAL Y MÉTODOS

1.- Tamaño de muestra:

Se analizaron 18 aislamientos del virus de Influenza Aviar, los cuales se obtuvieron de aves vacunadas que desarrollaron la presentación clínica de la enfermedad en varios estados de la República Mexicana en el periodo 2002-2006. Previo al estudio molecular, todos los aislamientos, fueron reportados ante la S.A.G.A.R.P.A. y remitidos al laboratorio de la Comisión México Estados Unidos para la Prevención de la Fiebre Aftosa y otras enfermedades Exóticas (CPA) de acuerdo a lo establecido por la NOM-044-ZOO-1005 Campaña Nacional Contra la Influenza Aviar. La CPA realizó el estudio de patotipo de las cepas y determinó que todas ellas eran virus de baja patogenicidad (**Cuadro 1**).

La cepa de 1994, que fue comparada con las 18 cepas de campo, es similar a la cepa vacunal A/CK/México/232/94 autorizada por la S.A.G.A.R.P.A., sólo que esta última posee cinco nucleótidos diferentes que resultan en el cambio de dos aminoácidos en las posiciones 169 y 195, los cuales no están asociados con los epítopes antigénicos de HA1; además de que el gen de la proteína NS presenta un cambio sinónimo, mientras que el gen de la proteína NA no presenta ninguna alteración.

2.- Extracción de ARN viral:

Se realizó la extracción del ARN viral utilizando la técnica de TRIzol® (Número de catálogo 15596-026) de acuerdo con las especificaciones del fabricante, a partir de líquido alantoideo ajustado a un título viral de 10^4 DIEP 50% / ml.

3.- RT-PCR:

El ARN se amplificó mediante la técnica RT-PCR con los iniciadores específicos descritos por Horimoto **(22)**, para el segmento de 812 pares de bases de longitud del gen del sitio de corte de la HA. La reacción de RT-PCR se efectuó mediante el paquete comercial Invitrogen Super Script™ One Step RT-PCR with Platinum® Taq (Número de catálogo 10928-042) de acuerdo con las especificaciones del fabricante.

4.- Purificación:

El material que se obtuvo con la técnica de RT-PCR, fue purificado con el paquete comercial QIA quick gel extraction® (Número de catálogo 01-28704) de acuerdo con las especificaciones del fabricante.

5.- Secuenciación:

La secuenciación se realizó en la Unidad de Secuenciación e Identificación de Polimorfismos, del Instituto Nacional de Medicina Genómica (IN.ME.GEN.) con el Analizador de ADN: Secuenciador Automático 3730XL de Applied Biosystems™.

6.- Análisis de Secuencias:

El análisis de las secuencias se efectuó con el programa Sequencer 4.7 DNA Sequence Analysis Software, Gene Codes Corporation 775 Technology Drive Suite 100A Ann Arbor, MI 48108 U.S.A.

7.- Alineación de Secuencias:

Las secuencias se alinearon y se compararon con el fin de determinar el porcentaje de homología de las Hemoaglutininas del virus, mediante la utilización del programa DNASTAR Software DNASTAR, Inc. 3801 Regent

Street Madison, WI 53705 U.S.A.

8.- Estudio Filogenético.

El estudio filogenético de las secuencias alineadas se realizó con el programa DNASTAR Software DNASTAR, Inc. 3801 Regent Street Madison, WI 53705 U.S.A.

Tanto el análisis de las secuencias como la alineación de las mismas, junto con el porcentaje de homología y el estudio filogenético se realizaron con el apoyo del MVZ MC Gerardo Nava del Laboratorio de Biología de las Mucosas que forma parte de la División de Ciencias Nutricionales de la Universidad de Illinois en Urbana-Champaign, Estados Unidos, y de la Dra. Laura Guest Senior Research Specialist del Centro W.M. Keck de Genómica Comparativa y Funcional de la misma universidad.

RESULTADOS

Como resultado de este estudio, el porcentaje de homología de las secuencias de nucleótidos del segmento de 812 pares de bases del gen del sitio de corte de la HA de las 18 cepas virales, se encontró entre el 93.3 y el 99.9% (**Cuadro 2**). Por otro lado, el porcentaje de homología de las secuencias de nucleótidos del mismo segmento de las 18 cepas virales comparadas con la cepa de 1994, se encontró entre el 89.2 % y el 99.9 % (**Cuadro 3**). Con los datos obtenidos en ambos estudios se elaboró el árbol filogenético correspondiente; en el primero (que no incluyó a la cepa de 1994), se detectó la existencia de cambios genéticos responsables del origen de 5 importantes subdivisiones que a su vez dieron lugar a 6 grupos genéticos (**Figura 11**). Los dos primeros grupos fueron formados por las cepas identificadas como M20.seq, M19.seq, M4.seq, M5seq, M13.seq, M17.seq, M18.seq y M12.seq. La única característica común entre ellas es que pertenecían a aislamientos del año 2002; los siguientes dos grupos formados por 6 cepas: M01-06.seq, M02-06.seq, M06-06.seq, M03-06.seq, M04-06.seq y M07-06.seq, correspondieron a aislamientos del año 2006, y finalmente, los últimos dos grupos de 4 cepas: M01-05.seq, M7.seq, M05-05.seq y M6.seq pertenecieron al año 2005. Entre los 6 grupos genéticos, aparentemente no existía ninguna relación geográfica, aunque se ignora si dichos aislamientos correspondían a una misma empresa avícola, sin embargo, se observó un comportamiento cíclico anual del virus en relación a los cambios genéticos sufridos.

Cuando se incluyó a la cepa de 1994 (**Figura 12**), se observó que los cambios moleculares que ha sufrido la proteína HA del virus provocaron que los

porcentajes de homología entre las cepas de campo y la cepa de 1994 fluctuaron de 89.2 a 99.2%, lo que ocasionó la derivación de dos grandes grupos, el primero formado por las 18 cepas virales y el segundo por la cepa de 1994. Por lo que respecta al grupo de las 18 cepas virales, la cepa M12.seq formó un subgrupo filogenético y las 17 restantes otro, en éste último se observó la derivación de las cepas de manera anual a partir del año 2002 hasta el año 2006.

El porcentaje de homología de las secuencias de aminoácidos del segmento de 812 pares de bases del sitio de corte de la hemoaglutinina entre las 18 cepas y la cepa de 1994, fluctuó del 6.2 % al 100% (**Cuadro 4**); el tercer árbol (**Figura 13**) de las mismas secuencias mostró la existencia de dos grupos filogenéticos, el primero compuesto por las cepas virales identificadas como: M7.seq, M20.seq, M01-06.seq y la cepa de 1994, y el segundo integrado por las 15 cepas virales restantes. Sin embargo, entre las cepas virales de uno u otro grupo no existió ninguna relación con el año o la región de aislamiento.

DISCUSIÓN

De acuerdo a lo publicado por Webster *et al.* (1992), la naturaleza segmentada del genoma del virus de Influenza Aviar y la falta de corrección de la ARN polimerasa produce errores de 1 en 10^4 bases por ciclo de replicación viral, hecho que contrasta con la fidelidad de replicación de la ADN polimerasa que tiene errores en un orden de 1 en cada 10^9 bases por ciclo de replicación viral. Webster *et al.* (1992), señalan que resultado de dicha propensión de error de la ARN polimerasa durante el ciclo de replicación viral, la HA experimenta una tasa de mutación de 2×10^{-3} sustituciones de bases por posición en cada generación viral, a raíz de lo cual, las glucoproteínas de superficie HA y NA evolucionan en forma continua y en mayor medida que el resto de las proteínas que conforman al virus de la Influenza Aviar **(12)**. A pesar de que los aminoácidos del sitio de unión de los receptores de la HA son altamente conservados, el resto de la proteína es susceptible a sufrir cambios de bases **(10)**. En esta investigación, mediante el estudio filogenético se ha demostrado la existencia de cambios en las secuencias de nucleótidos y de aminoácidos codificados por el segmento de 812 pares de bases de longitud del gen del sitio de corte de la HA de la cepa de 1994 con respecto a los 18 aislamientos de campo del periodo 2002-2006. García *et al.*, (1996) efectuaron un estudio filogenético y determinaron el porcentaje de homología de las secuencias de aminoácidos y de nucleótidos del sitio de corte de la proteína HA de 18 cepas aisladas en el periodo de octubre de 1993 a enero de 1995, después del brote de IA de AP en México en 1994 y concluyeron que la

secuencia de aminoácidos del gen de la subunidad HA1 de la proteína HA era diferente entre los 18 aislamientos, adicionalmente encontraron la existencia de dos grupos filogenéticos a los que denominaron Puebla y Jalisco. Mientras que los porcentajes de homología de las secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de los 18 aislamientos que estudiaron se encontraron entre el 0.4 a 6.2% y el 0.6 a 10.5%, respectivamente. Posteriormente, Lee *et al.*, en 2004 realizaron el estudio filogenético del gen HA de 52 cepas del virus de Influenza Aviar subtipo H5N2 endémico de México aisladas en el periodo 1993-2002 y determinaron un porcentaje de homología de las secuencias de nucleótidos y aminoácidos en este sitio de 86.0-99.8% y de 84.6 a 99.7% respectivamente. Los resultados encontrados por García *et al.*, (1996) y Lee *et al.*, (2004) constituyen antecedentes que refuerzan la hipótesis de este trabajo. Sin embargo, los porcentajes de homología de las secuencias de nucleótidos entre las 18 cepas del virus de IA encontrados por García *et al.* (1996) son inferiores a los obtenidos en el presente estudio. Por lo que se refiere al trabajo de Lee *et al.*, (2004), el porcentaje de homología de las secuencias de nucleótidos no difiere de lo encontrado en ésta investigación; mientras que el porcentaje de homología de las secuencias de aminoácidos con un valor mínimo de 6.2 % obtenido en la presente investigación, difiere marcadamente.

Las secuencias de nucleótidos del genoma del virus de IA durante la replicación viral determinan los aminoácidos que se sintetizarán, y a su vez los aminoácidos son los componentes estructurales de las proteínas virales como la HA. Por lo tanto, los porcentajes de homología de las secuencias de nucleótidos del segmento de la proteína HA de las cepas del periodo 2002-2006 con respecto a la

cepa del año 1994 del virus de IA de BP subtipo H5N2 que se observaron en este estudio fueron responsables de los bajos porcentajes de homología de las secuencias de aminoácidos y sugieren la existencia de cambios genéticos en la proteína HA de las cepas virales analizadas.

Adicionalmente, se encontró que el porcentaje de homología de las secuencias de aminoácidos entre la cepa de 1994 y el resto de las 18 cepas virales, fluctúa entre 8.8 y 85.7%, dato que es muy importante ya que algunos autores como Swayne *et al.* (1999) han encontrado que experimentalmente se requiere un porcentaje de homología entre la cepa vacunal y la cepa de desafío del virus de Influenza Aviar del 86% para proporcionar a las aves una buena protección inmunológica contra las cepas de campo de este virus.

Por otro lado, los resultados de las investigaciones de Swayne *et al.*, (1999), Swayne *et al.*, (2000), Swayne *et al.*, (2001) y Halvorson (2002), sugieren que la vacunación no impide la infección con las cepas de campo del virus de IA, pero sí disminuye la cantidad del virus de IA eliminado de los aparatos respiratorio y digestivo en las aves vacunadas que son infectadas, hecho que reduce la posibilidad de la contaminación ambiental y la transmisión del virus a otras aves **(23, 24, 25, 26)**. Swayne *et al.*, (2000) proponen que el porcentaje de homología de la secuencia del gen HA de las cepas de campo y la cepa vacunal es clave en la habilidad de ésta última para reducir los niveles de eliminación del virus de desafío vía orofaringe, pero no de cloaca, así mismo establecieron que un porcentaje de homología menor al 90% de la proteína HA entre las cepas de campo y la cepa vacunal del virus de IA, puede resultar en una reducción inconsistente de la cantidad de virus eliminado del aparato respiratorio. Una vez

más, el porcentaje de homología de las secuencias de aminoácidos encontrado en el presente estudio, entre la cepa del virus de IA de BP subtipo H5N2 de 1994, y las cepas de campo sugiere que la vacunación no disminuye los niveles de eliminación del virus que infecta a las aves vacunadas, lo cual podría explicar la permanencia del virus de IA de BP subtipo H5N2 en el país desde el año de 1994 hasta la fecha a pesar de emplear la vacunación como una medida de control de la enfermedad. Finalmente, los cambios genéticos encontrados en la proteína HA del virus de IA de BP subtipo H5N2 endémico de México hacen necesario considerar la posibilidad de cambiar la cepa vacunal autorizada por la S.A.G.A.R.P.A. en la elaboración de vacunas, con el objetivo de garantizar la protección de las aves que sean vacunadas con esta y disminuir la cantidad de virus eliminado al ambiente, para reducir la posibilidad de la infección de otras aves y la permanencia de este virus en el país.

REFERENCIAS

1. Swayne DE, Halvorson DA. Influenza. En: Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LR, Swayne DE, editores. Diseases of Poultry. Iowa: Blackwell Publishing, 2003: 135-160.
2. Fouchier RA, Munster V, Wallensten A, Bestebroer TM, Herfst S, Smith D, *et al.* Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *J Virol* 2005; 79: 2814–2822.
3. World Organisation for Animal Health [portal en internet]. Francia: The WHO [Actualizada 08 Julio 2005; Citada en Junio 2006]. Disponible en: http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00037.htm#top.
4. Horimoto T, Kawaoka Y. Pandemic threat posed by avian influenza A viruses. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 129-149.
5. Suarez DL, Senne DA. Sequence analysis of related low-pathogenic and highly pathogenic H5N2 avian influenza isolates from United States live bird markets and poultry farms from 1983 to 1989. *Avian Dis* 2000; 44: 356-364.
6. Suarez DL, Spackman E, Senne DA. Update on molecular epidemiology of H1, H5, and H7 influenza virus infections in poultry in North America. *Avian Dis* 2003; 47: 888-897.
7. Lee ChW, Swayne DE, Linares JA, Senne DA, Suarez DL. H5N2 Avian influenza outbreak in Texas in 2004: the first highly pathogenic strain in the United States in 20 years?. *J Virol* 2005; 79: 11412-11421.

8. Ito T, Goto H, Yamamoto E, Tanaka H, Takeuchi M, Kuwayama M, *et al.* Generation of a highly pathogenic avian influenza A virus from an avirulent field isolate by passaging in chickens. *J Virol* 2001; 75: 4439 - 4443.
9. Garcia M, Crawford JM, Latimer JW, Rivera-Cruz E, Perdue LM. Heterogeneity in the haemagglutinin gene and emergence of the highly pathogenic phenotype among recent H5N2 avian influenza viruses from Mexico. *J Virol* 1996; 77: 1493-1504.
10. Horimoto T, Rivera E, Pearson J, Senne D, Krauss S, Kawaoka Y, *et al.* Origin and molecular changes associated with emergence of a highly pathogenic H5N2 Influenza Virus in Mexico. *J Virol* 1995; 69: 223-230.
11. Perdue ML, Suarez DL. Structural features of the avian influenza virus hemagglutinin that influence virulence. *Vet Microbiol* 2000; 74: 77-86
12. Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, Chambers TM, Kawaoka Y. Evolution and ecology of Influenza A viruses. *Microbiol Rev* 1992; 56: 152-179.
13. Kaverin NV, Rudneva IA, Ilyushina NA, Varich NL, Lipatov AS, Smirnov YA, *et al.* Structure of antigenic sites on the haemagglutinin molecule of H5 avian influenza and phenotypic variation of escape mutants. *J Gen Virol* 2002; 83: 2497-2505.
14. Macken CA, Webby RJ, Bruno WJ. Genotype turnover by reassortment of replication complex genes from avian influenza A virus. *J Gen Virol* 2006; 87: 2803-2815.
15. Chare ER, Gould EA, Holmes EC. Phylogenetic analysis reveals a low rate of homologous recombination in negative-sense RNA viruses. *J Gen Virol* 2003; 84: 2691-2703.

16. Pasick J, Handel K, Robinson J, Copps J, Ridd D, Hills K, et al. Intersegmental recombination between the haemagglutinin and matrix genes was responsible of the emergence of a highly pathogenic H7N3 avian influenza virus in British Columbia. *J Gen Virol* 2005; 86: 727-731.
17. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria [portal en Internet]. México: SENASICA [Actualizado Noviembre 2005; Citado Junio 2006]. Disponible en: http://senasicaw.senasica.sagarpa.gob.mx/portal/html/salud_animal/campanas_zoosanitarias/Campana_Nacional_Influenza_Aviar.html.
18. Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-044-ZOO-1995 Campaña Nacional contra la Influenza Aviar (30 de Enero de 2006). Disponible en: [http://www.ordenjuridico.gob.mx/Federal/PE/APF/APC/SAGARPA/Modificaciones/2006/30012006\(1\).pdf](http://www.ordenjuridico.gob.mx/Federal/PE/APF/APC/SAGARPA/Modificaciones/2006/30012006(1).pdf)
19. Villarreal-Chavez C, Rivera-Cruz E. An update on avian influenza in Mexico. *Avian Dis* 2003; 47: 1002-1005.
20. Senne DA. Avian influenza in the Western Hemisphere including the Pacific Islands and Australia. *Avian Dis* 2003; 47: 798-805
21. Lee ChW, Senne DA, Suarez DL. Effect of vaccine use in the evolution of Mexican lineage H5N2 Avian Influenza Virus. *J Virol* 2004; 78: 8372-8381.
22. Horimoto T y Kawaoka Y: Direct Reverse Transcriptase PCR to determine virulence potential of influenza A virus in birds. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 748-751.

23. Swayne DE, Beck JR, Garcia M, Stone HD. Influence of virus strain and antigen mass on efficacy of H5 avian influenza inactivated vaccines. *Avian Pathol* 1999; 28: 245-255.
- 24.** Swayne DE, Perdue ML, Beck JR, Garcia M, Suarez DL. Vaccines protect chickens against H5 highly pathogenic avian influenza in the face of genetic changes in field viruses over multiple years. *Vet Microbiol* 2000; 74: 165-172.
25. Swayne DE, Beck JR, Perdue ML, Beard ChW. Efficacy of vaccines in chickens against highly pathogenic Hong Kong H5N1 avian influenza. *Avian Dis* 2001; 45: 355-365.
26. Halvorson DA. The control of H5 or H7 mildly pathogenic avian influenza: a role for inactivated vaccine. *Avian Pathol* 2002; 31: 5-12.

FIGURAS

FIGURA 1

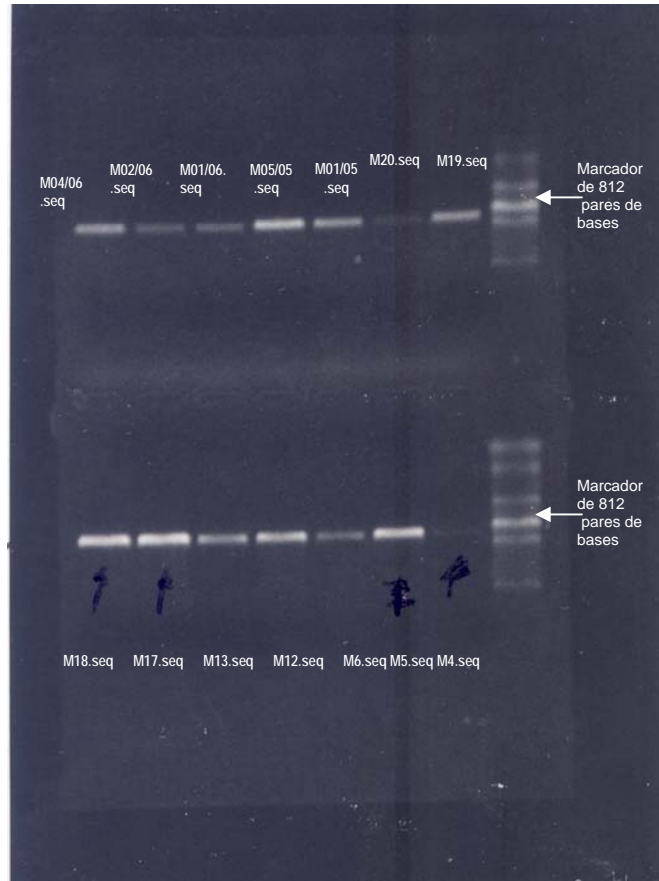


Figura 1: Fotografía del gel de agarosa al 1.5% que muestra el producto de RT-PCR del segmento de 812 pares de bases de longitud del gen del sitio de corte de la proteína hemoaglutinina de 14 cepas del virus de Influenza Aviar de Baja Patogenicidad subtipo H5N2 aisladas en el periodo 2002-2006 de aves vacunadas con la cepa A/CK/México/232/94 que presentaron la forma clínica de la enfermedad en varios estados de la República Mexicana secuenciadas en México.

FIGURAS

FIGURA 2

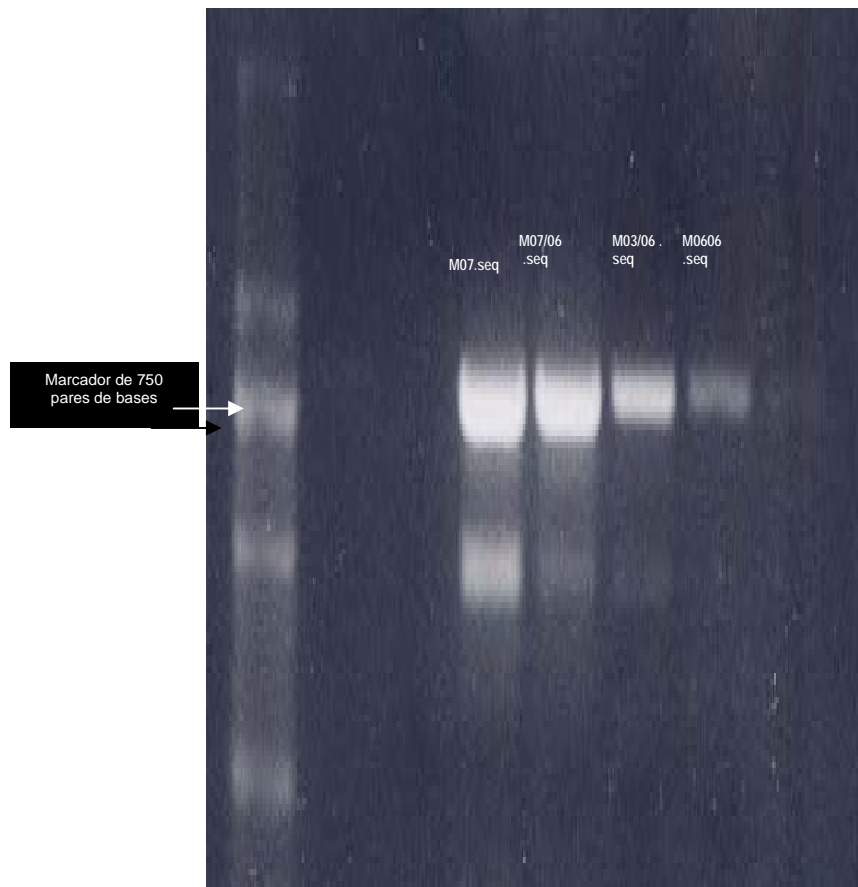


Figura 2: Fotografía del gel de agarosa al 1.5% que muestra el producto de RT-PCR del segmento de 812 pares de bases de longitud del gen del sitio de corte de la proteína Hemoaglutinina de 4 cepas del virus de Influenza Aviar de Baja Patogenicidad subtipo H5N2 aisladas en el periodo 2002-2006 de aves vacunadas con la cepa A/CK/México/232/94 que presentaron la forma clínica de la enfermedad en varios estados de la República Mexicana.

FIGURAS

FIGURA 3

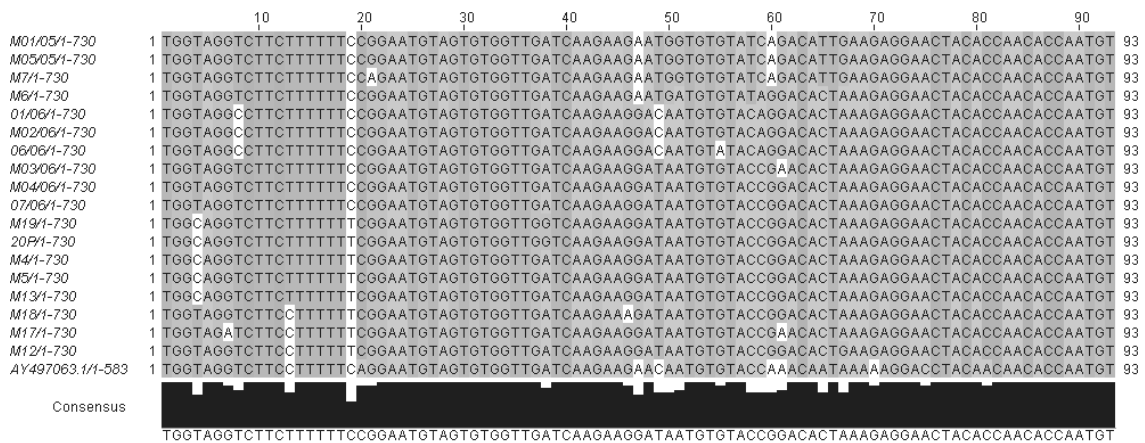


Figura 3: Alineamientos de las secuencias de nucleótidos del segmento de 812 pares de bases de longitud del gen del sitio de corte de la proteína hemoaglutinina de 18 cepas del virus de Influenza Aviar de Baja Patogenicidad aisladas en el periodo 2002-2006 de aves vacunadas con la cepa A/CK/México/232/94 que presentaron la forma clínica de la enfermedad en varios estados de la República Mexicana secuenciadas en México y de la cepa de 1994, AY497063 A/Chicken/Hidalgo/232/94 HA

FIGURAS

FIGURA 4

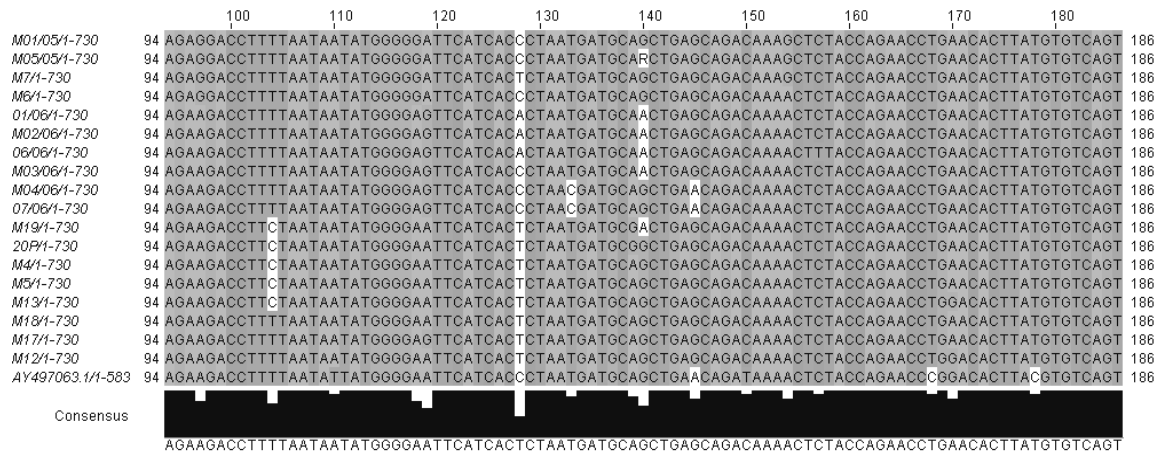


Figura 4: Alineamientos de las secuencias de nucleótidos del segmento de 812 pares de bases de longitud del gen del sitio de corte de la proteína hemoaglutinina de 18 cepas del virus de Influenza Aviar de Baja Patogenicidad aisladas en el periodo 2002-2006 de aves vacunadas con la cepa A/CK/México/232/94 que presentaron la forma clínica de la enfermedad en varios estados de la República Mexicana secuenciadas en México y de la cepa de 1994, AY497063 A/Chicken/Hidalgo/232/94 HA.

FIGURAS

FIGURA 5

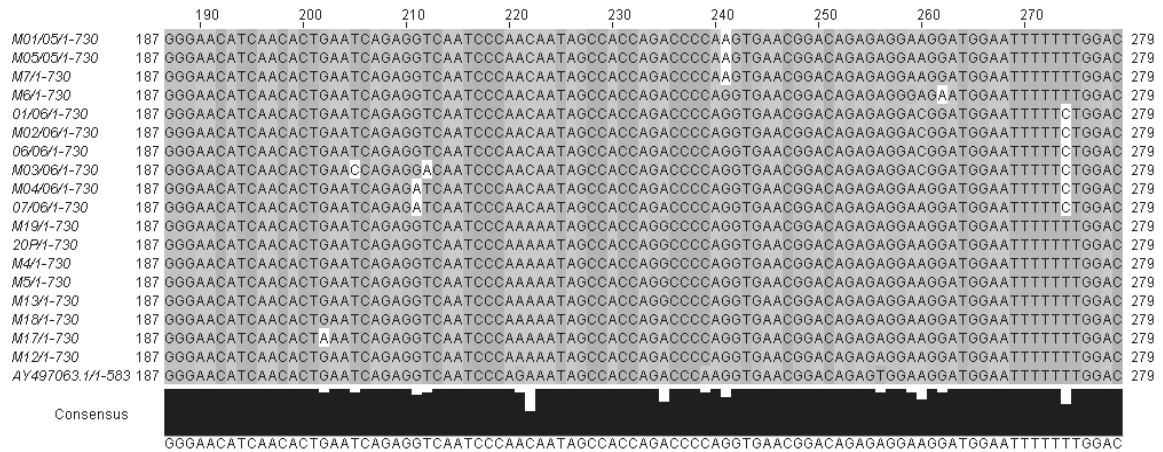


Figura 5: Alineamientos de las secuencias de nucleótidos del segmento de 812 pares de bases de longitud del gen del sitio de corte de la proteína hemoaglutinina de 18 cepas del virus de Influenza Aviar de Baja Patogenicidad aisladas en el periodo 2002-2006 de aves vacunadas con la cepa A/CK/México/232/94 que presentaron la forma clínica de la enfermedad en varios estados de la República Mexicana secuenciadas en México y de la cepa de 1994 de 1994, AY497063 A/Chicken/Hidalgo/232/94 HA.

FIGURAS

FIGURA 6

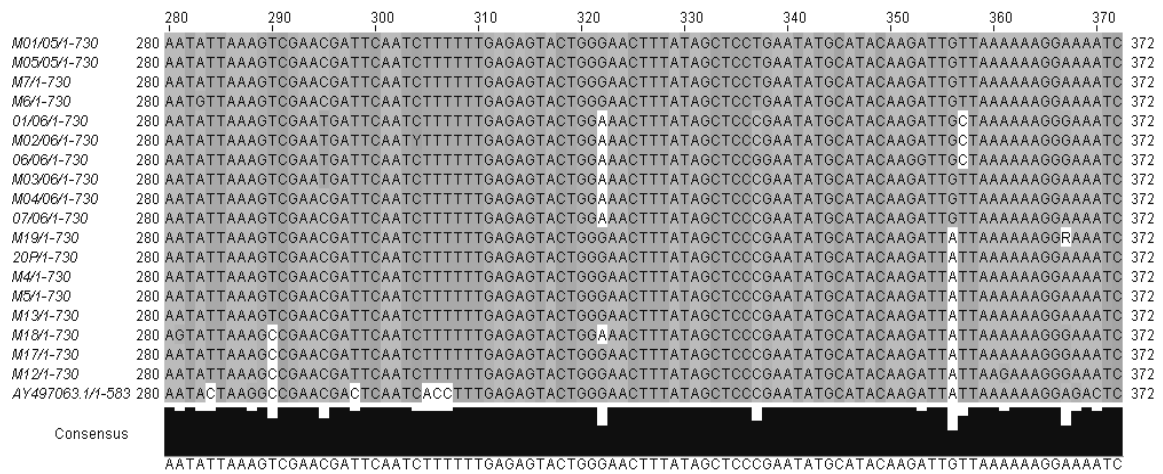


Figura 6: Alineamientos de las secuencias de nucleótidos del segmento de 812 pares de bases de longitud del gen del sitio de corte de la proteína hemoaglutinina de 18 cepas del virus de Influenza Aviar de Baja Patogenicidad aisladas en el periodo 2002-2006 de aves vacunadas con la cepa A/CK/México/232/94 que presentaron la forma clínica de la enfermedad en varios estados de la República Mexicana secuenciadas en México y de la cepa de 1994, AY497063 A/Chicken/Hidalgo/232/94 HA.

FIGURAS

FIGURA 7

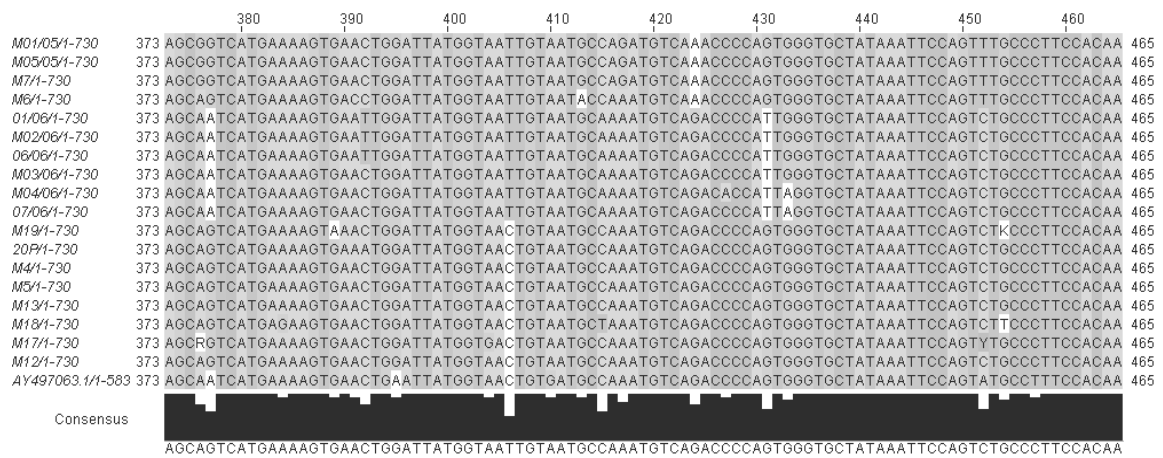


Figura 7: Alineamientos de las secuencias de nucleótidos del segmento de 812 pares de bases de longitud del gen del sitio de corte de la proteína hemoaglutinina de 18 cepas del virus de Influenza Aviar de Baja Patogenicidad aisladas en el periodo 2002-2006 de aves vacunadas con la cepa A/CK/México/232/94 que presentaron la forma clínica de la enfermedad en varios estados de la República Mexicana secuenciadas en México y de la cepa de 1994 de 1994, AY497063 A/Chicken/Hidalgo/232/94 HA.

FIGURAS

FIGURA 8

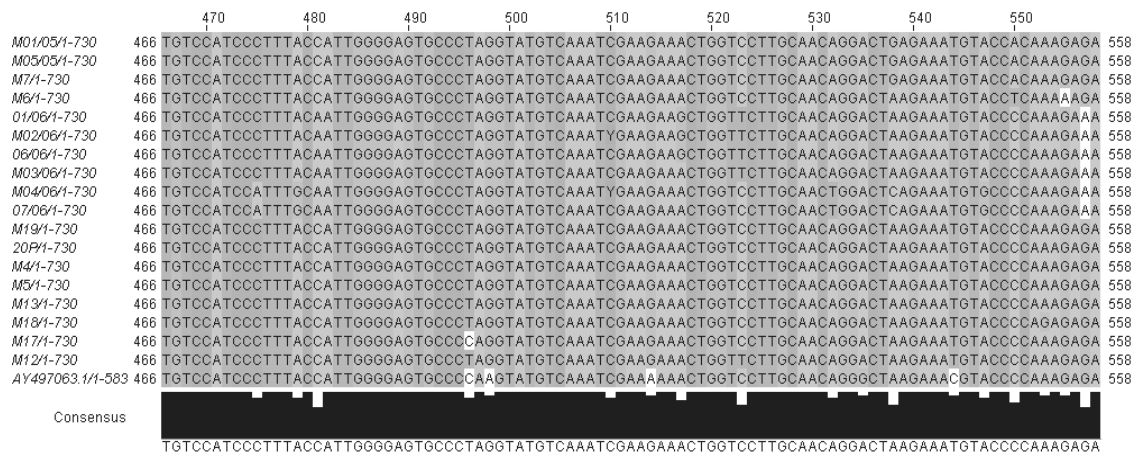


Figura 8: Alineamientos de las secuencias de nucleótidos del segmento de 812 pares de bases de longitud del gen del sitio de corte de la proteína hemoaglutinina de 18 cepas del virus de Influenza Aviar de Baja Patogenicidad aisladas en el periodo 2002-2006 de aves vacunadas con la cepa A/CK/México/232/94 que presentaron la forma clínica de la enfermedad en varios estados de la República Mexicana secuenciadas en México y de la cepa de 1994, AY497063 A/Chicken/Hidalgo/232/94 HA.

FIGURAS

FIGURA 9

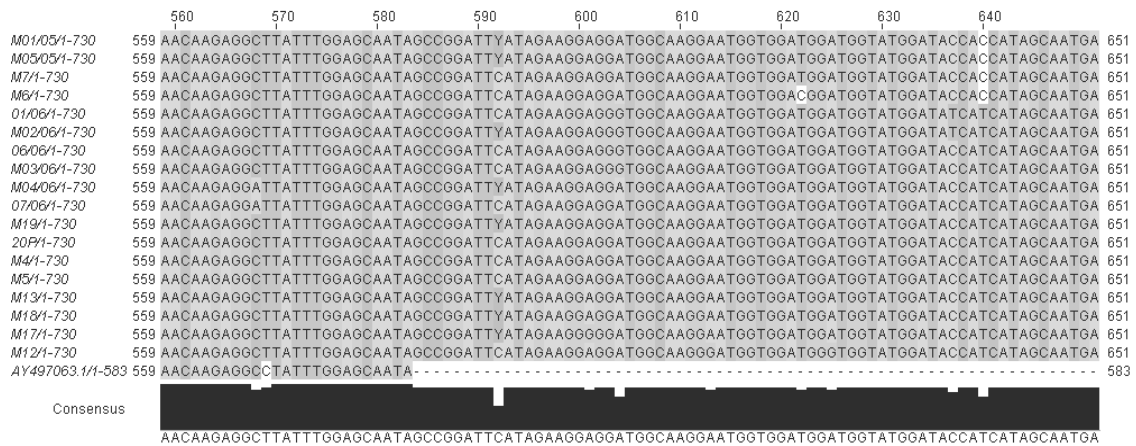


Figura 9: Alineamientos de las secuencias de nucleótidos del segmento de 812 pares de bases de longitud del gen del sitio de corte de la proteína hemoaglutinina de 18 cepas del virus de Influenza Aviar de Baja Patogenicidad aisladas en el periodo 2002-2006 de aves vacunadas con la cepa A/CK/México/232/94 que presentaron la forma clínica de la enfermedad en varios estados de la República Mexicana secuenciadas en México y de la cepa de 1994 de 1994, AY497063 A/Chicken/Hidalgo/232/94 HA.

FIGURAS

FIGURA 10

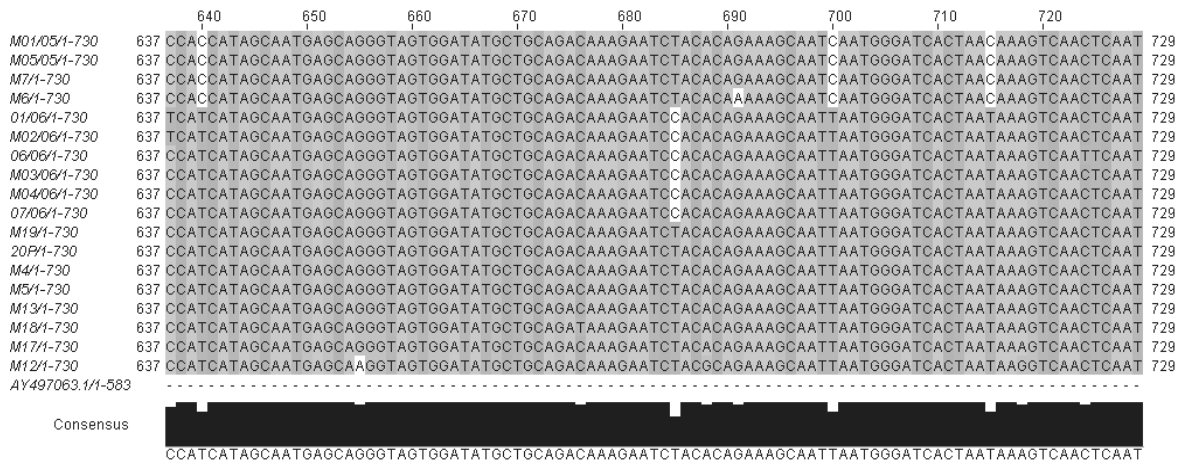


Figura 10: Alineamientos de las secuencias de nucleótidos del segmento de 812 pares de bases de longitud del gen del sitio de corte de la proteína hemoaglutinina de 18 cepas del virus de Influenza Aviar de Baja Patogenicidad aisladas en el periodo 2002-2006 de aves vacunadas con la cepa A/CK/México/232/94 que presentaron la forma clínica de la enfermedad en varios estados de la República Mexicana secuenciadas en México y de la cepa de 1994 de 1994, AY497063 A/Chicken/Hidalgo/232/94 HA.

FIGURAS

FIGURA 11

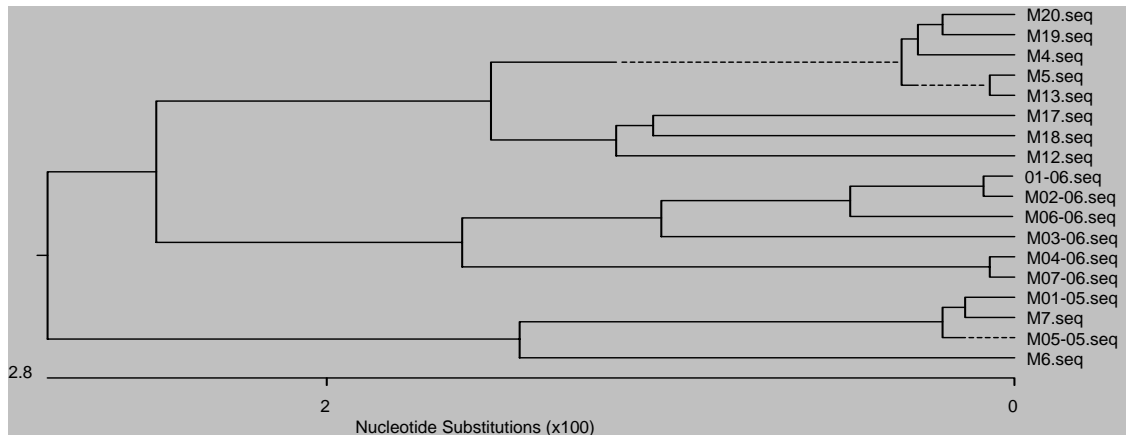


Figura 11: Análisis Filogenético construido con las secuencias de nucleótidos del segmento de 812 pares de bases de longitud del gen del sitio de corte de la proteína hemoaglutinina de 18 cepas del virus de Influenza Aviar de Baja Patogenicidad aisladas en el periodo 2002-2006 de aves vacunadas con la cepa *A/CK/México/232/94* que presentaron la forma clínica de la enfermedad en varios estados de la República Mexicana secuenciadas en México. La barra con valores de 0 a 2.8 señala el número de sustituciones de nucleótidos multiplicadas por 100 de cada una de las cepas virales analizadas con respecto al ancestro. Las líneas punteadas representan una asociación negativa con respecto a la distancia promedio en el análisis filogenético del ancestro, es decir, la probabilidad de que ese sea el ancestro se encuentra del otro lado de la recta numérica.

FIGURAS

FIGURA 12

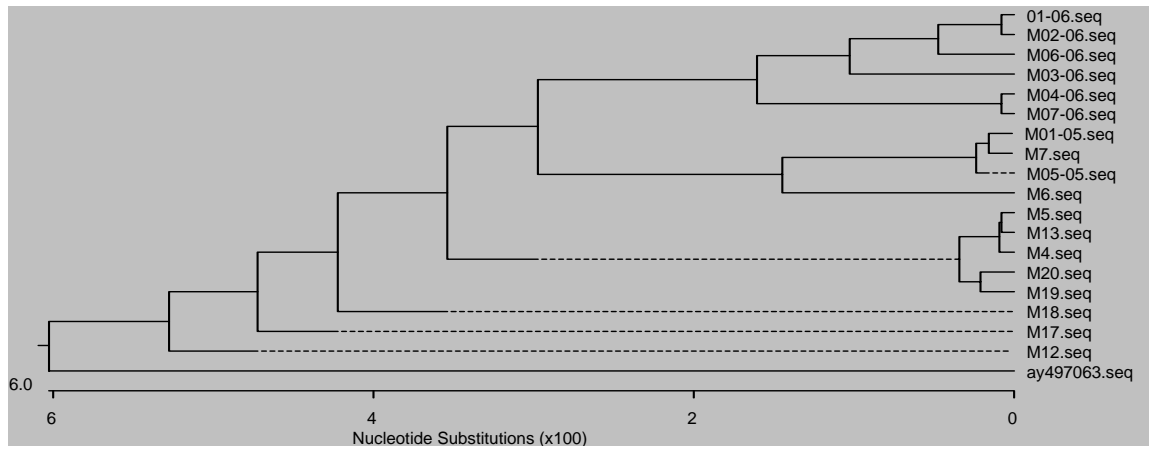


Figura 12: Análisis de Filogenético construido con las secuencias de nucleótidos del segmento de 812 pares de bases de longitud del gen del sitio de corte de la proteína hemoaglutinina de 18 cepas del virus de Influenza Aviar de Baja Patogenicidad aisladas en el periodo 2002-2006 de aves vacunadas con la cepa A/CK/México/232/94 que presentaron la forma clínica de la enfermedad en varios estados de la República Mexicana y comparadas con la cepa vacunal AY497063 A/Chicken/Hidalgo/232/94 HA secuenciadas en México. La barra con valores de 0 a 6.0 señala el número de sustituciones de nucleótidos multiplicadas por 100 de cada una de las cepas virales analizadas con respecto al ancestro. Las líneas punteadas representan una asociación negativa con respecto a la distancia promedio en el análisis filogenético del ancestro, es decir, la probabilidad de que ese sea el ancestro se encuentra del otro lado de la recta numérica.

FIGURAS

FIGURA 13

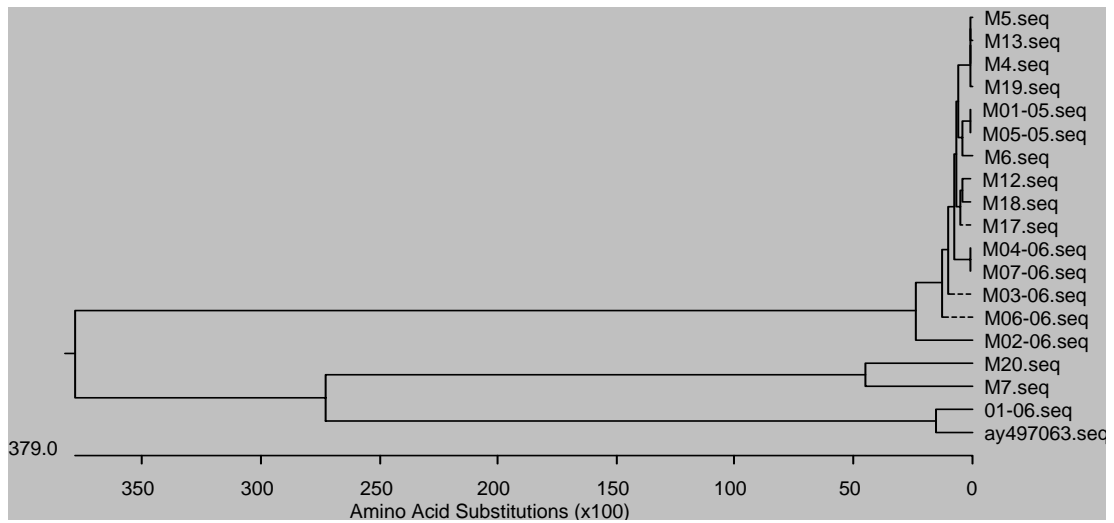


Figura 13: Análisis de Filogenético construido con las secuencias de aminoácidos del segmento de 812 pares de bases de longitud del gen del sitio de corte de la proteína hemoaglutinina de 18 cepas del virus de Influenza Aviar de Baja Patogenicidad aisladas en el periodo 2002-2006 de aves vacunadas con la cepa vacunal A/CK/México/232/94 que presentaron la forma clínica de la enfermedad en varios estados de la República Mexicana y comparadas con la cepa vacunal AY497063 A/Chicken/Hidalgo/232/94 HA secuenciadas en México. La barra con valores de 0 a 379.0 señala el número de sustituciones de aminoácidos multiplicadas por 100 de cada una de las cepas virales analizadas con respecto al ancestro. Las líneas punteadas representan una asociación negativa con respecto a la distancia promedio en el análisis filogenético del ancestro, es decir, la probabilidad de que ese sea el ancestro se encuentra del otro lado de la recta numérica

CUADROS

| IDENTIFICACIÓN DE 18 CEPAS DEL VIRUS DE IA DE BP SUBTIPO H5N2 AISLADAS EN EL PERIODO 2002-2006 EN VARIOS ESTADOS DE LA REPÚBLICA DE AVES VACUNADAS QUE PRESENTARON LA FORMA CLÍNICA DE LA ENFERMEDAD | | |
|--|--|---|
| <i>IDENTIFICACIÓN DE LAS MUESTRASα</i> | <i>ESTADO DE LA REPÚBLICAγ</i> | <i>AÑO DE AISLAMIENTO κ</i> |
| M4.seq | Querétaro | 2002 |
| M5.seq | Hidalgo | 2002 |
| M6.seq | Colima | 2005 |
| M7.seq | Jalisco | 2005 |
| M12.seq | Nuevo León | 2002 |
| M13.seq | San Luis Potosí | 2002 |
| M17.seq | Puebla | 2002 |
| M18.seq | San Luis Potosí | 2002 |
| M19.seq | No especificado | 2002 |
| M20.seq | No especificado | 2002 |
| M01 -05.seq | Aguascalientes | 2005 |
| M05 -05.seq | Puebla | 2005 |
| M01 -06.seq | Puebla | 2006 |
| M02 -06.seq | Estado de México | 2006 |
| M03 -06.seq | Estado de México | 2006 |
| M04-06.seq | Puebla | 2006 |
| M06-06.seq | Puebla | 2006 |
| M07 -06.seq | Puebla | 2006 |

Cuadro 1. (α): Identificación que asignó el laboratorio de diagnóstico acreditado a cada cepa aislada del virus de Influenza Aviar de Baja Patogenicidad subtipo H5N2; (γ): Estado de la República donde se encuentra la explotación cuyas aves presentaron la forma clínica de la Influenza Aviar de Baja Patogenicidad y (κ): Año de aislamiento de las cepas del virus de Influenza Aviar subtipo H5N2 de Baja Patogenicidad.

| CUADRO 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------|------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| IDENTIFICACIÓN DE LAS CEPAS | PORCENTAJES DE HOMOLOGÍA (%) | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | % | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 |
| M20.seq | 1 | * | 94.4 | 95.5 | 95.1 | 96.0 | 99.5 | 95.5 | 98.8 | 95.2 | 95.6 | 93.9 | 94.7 | 95.6 | 97.5 | 99.3 | 97.4 | 97.4 | 99.2 |
| M01-06.seq | 2 | 94.4 | * | 93.9 | 99.5 | 98.2 | 95.8 | 96.3 | 95.1 | 93.7 | 94.3 | 99.1 | 93.7 | 96.5 | 95.2 | 95.6 | 95.1 | 95.2 | 95.3 |
| M01-05.seq | 3 | 95.5 | 93.9 | * | 93.7 | 94.7 | 95.9 | 94.4 | 95.9 | 99.7 | 97.3 | 93.4 | 99.6 | 94.5 | 94.9 | 95.9 | 95.1 | 94.9 | 95.2 |
| M02-06.seq | 4 | 95.1 | 99.5 | 93.7 | * | 98.0 | 95.5 | 96.4 | 95.4 | 93.6 | 93.8 | 98.6 | 93.3 | 96.3 | 94.8 | 95.5 | 94.9 | 95.2 | 95.2 |
| M03-06.seq | 5 | 96.0 | 98.2 | 94.7 | 98.0 | * | 96.6 | 97.1 | 96.5 | 94.5 | 94.8 | 97.7 | 94.4 | 97.5 | 95.6 | 96.3 | 95.8 | 95.8 | 95.9 |
| M4.seq | 6 | 99.5 | 95.8 | 95.9 | 95.5 | 96.6 | * | 95.9 | 99.9 | 95.6 | 96.0 | 95.2 | 95.9 | 96.3 | 97.9 | 99.7 | 97.8 | 98.0 | 99.0 |
| M04-06.seq | 7 | 95.5 | 96.3 | 94.4 | 96.4 | 97.1 | 95.9 | * | 95.9 | 94.1 | 94.1 | 95.8 | 94.0 | 99.6 | 94.7 | 95.9 | 95.1 | 95.3 | 95.2 |
| M5.seq | 8 | 98.8 | 95.1 | 95.9 | 95.4 | 96.5 | 99.9 | 95.9 | * | 95.6 | 96.0 | 94.7 | 95.4 | 96.0 | 97.9 | 99.7 | 97.8 | 97.8 | 99.0 |
| M05-05.seq | 9 | 95.2 | 93.7 | 99.7 | 93.6 | 94.5 | 95.6 | 94.1 | 95.6 | * | 97.0 | 93.3 | 99.3 | 94.3 | 94.7 | 95.6 | 94.8 | 94.7 | 95.1 |
| M6.seq | 10 | 95.6 | 94.3 | 97.3 | 93.8 | 94.8 | 96.0 | 94.1 | 96.0 | 97.0 | * | 93.8 | 97.1 | 94.5 | 94.8 | 95.8 | 94.8 | 94.8 | 95.1 |
| M06-06.seq | 11 | 93.9 | 99.1 | 93.4 | 98.6 | 97.7 | 95.2 | 95.8 | 94.7 | 93.3 | 93.8 | * | 93.5 | 95.9 | 94.7 | 95.1 | 94.5 | 94.7 | 94.8 |
| M7.seq | 12 | 94.7 | 93.7 | 99.6 | 93.3 | 94.4 | 95.9 | 94.0 | 95.4 | 99.3 | 97.1 | 93.5 | * | 94.1 | 95.1 | 95.8 | 94.9 | 94.7 | 95.1 |
| M07-06.seq | 13 | 95.6 | 96.5 | 94.5 | 96.3 | 97.5 | 96.3 | 99.6 | 96.0 | 94.3 | 94.5 | 95.9 | 94.1 | * | 95.1 | 96.0 | 95.2 | 95.5 | 95.3 |
| M12.seq | 14 | 97.5 | 95.2 | 94.9 | 94.8 | 95.6 | 97.9 | 94.7 | 97.9 | 94.7 | 94.8 | 94.7 | 95.1 | 95.1 | * | 97.9 | 97.4 | 97.5 | 97.1 |
| M13.seq | 15 | 99.3 | 95.6 | 95.9 | 95.5 | 96.3 | 99.7 | 95.9 | 99.7 | 95.6 | 95.8 | 95.1 | 95.8 | 96.0 | 97.9 | * | 97.8 | 97.9 | 99.0 |
| M17.seq | 16 | 97.4 | 95.1 | 95.1 | 94.9 | 95.8 | 97.8 | 95.1 | 97.8 | 94.8 | 94.8 | 94.5 | 94.9 | 95.2 | 97.4 | 97.8 | * | 97.7 | 97.3 |
| M18.seq | 17 | 97.4 | 95.2 | 94.9 | 95.2 | 95.8 | 98.0 | 95.3 | 97.8 | 94.7 | 94.8 | 94.7 | 94.7 | 95.5 | 97.5 | 97.9 | 97.7 | * | 97.5 |
| M19.seq | 18 | 99.2 | 95.3 | 95.2 | 95.2 | 95.9 | 99.0 | 95.2 | 99.0 | 95.1 | 95.1 | 94.8 | 95.1 | 95.3 | 97.1 | 99.0 | 97.3 | 97.5 | * |

Cuadro 2: Porcentaje de homología (%) entre las secuencias de nucleótidos del segmento de 812 pares de bases del gen del sitio de corte de la proteína HA de 18 cepas del virus de Influenza Aviar de Baja Patogenicidad subtipo H5N2 endémico de México del periodo 2002-2006 aisladas en varios estados de la República Mexicana de aves vacunadas que presentaron la forma clínica de la enfermedad. (*) 100% de homología.

CUADRO 3

| IDENTIFICACIÓN DE LAS CEPAS | PORCENTAJES DE HOMOLOGÍA (%) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------|------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | % | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 |
| M20.seq | 1 | * | 94.4 | 95.5 | 95.1 | 96.0 | 99.5 | 95.5 | 98.8 | 95.2 | 95.6 | 93.9 | 94.7 | 95.6 | 97.5 | 99.3 | 97.4 | 97.4 | 99.2 | 91.8 |
| M01-06.seq | 2 | 94.9 | * | 93.9 | 99.5 | 98.2 | 95.8 | 96.3 | 95.1 | 93.7 | 94.3 | 99.1 | 93.7 | 96.5 | 95.2 | 95.6 | 95.1 | 95.2 | 95.3 | 90.0 |
| M01-05.seq | 3 | 95.5 | 93.9 | * | 93.7 | 94.7 | 95.9 | 94.4 | 95.9 | 99.7 | 97.3 | 93.4 | 99.6 | 94.5 | 94.9 | 95.9 | 95.1 | 94.9 | 95.2 | 99.7 |
| M02-06.seq | 4 | 95.1 | 99.5 | 93.7 | * | 98.0 | 95.5 | 96.4 | 95.4 | 93.6 | 93.8 | 98.6 | 93.3 | 96.3 | 94.8 | 95.5 | 94.9 | 95.2 | 95.2 | 89.7 |
| M03-06.seq | 5 | 96.0 | 98.2 | 94.7 | 98.0 | * | 96.6 | 97.1 | 96.5 | 94.5 | 94.8 | 97.7 | 94.4 | 97.5 | 95.6 | 96.3 | 95.8 | 95.8 | 95.9 | 90.9 |
| M4.seq | 6 | 99.5 | 95.8 | 95.9 | 95.5 | 96.6 | * | 95.9 | 99.9 | 95.6 | 96.0 | 95.2 | 95.9 | 96.3 | 97.9 | 99.7 | 97.8 | 98.0 | 99.0 | 92.5 |
| M04-06.seq | 7 | 95.5 | 96.3 | 94.4 | 96.4 | 97.1 | 95.9 | * | 95.9 | 94.1 | 94.1 | 95.8 | 94.0 | 99.6 | 94.7 | 95.9 | 95.1 | 95.3 | 95.2 | 90.1 |
| M5.seq | 8 | 98.8 | 95.1 | 95.9 | 95.4 | 96.5 | 99.9 | 95.9 | * | 95.6 | 96.0 | 94.7 | 95.4 | 96.0 | 97.9 | 99.7 | 97.8 | 97.8 | 99.0 | 92.1 |
| M05-05.seq | 9 | 95.2 | 93.7 | 99.7 | 93.6 | 94.5 | 95.6 | 94.1 | 95.6 | * | 97.0 | 93.3 | 99.3 | 94.3 | 94.7 | 95.6 | 94.8 | 94.7 | 95.1 | 90.6 |
| M6.seq | 10 | 95.6 | 94.3 | 97.3 | 93.8 | 94.8 | 96.0 | 94.1 | 96.0 | 97.0 | * | 93.8 | 97.1 | 94.5 | 94.8 | 95.8 | 94.8 | 94.8 | 95.1 | 90.6 |
| M06-06.seq | 11 | 93.9 | 99.1 | 93.4 | 98.6 | 97.7 | 95.2 | 95.8 | 94.7 | 93.3 | 93.8 | * | 93.5 | 95.9 | 94.7 | 95.1 | 94.5 | 94.7 | 94.8 | 89.2 |
| M7.seq | 12 | 94.7 | 93.7 | 99.6 | 93.3 | 94.4 | 95.9 | 94.0 | 95.4 | 99.3 | 97.1 | 93.5 | * | 94.1 | 95.1 | 95.8 | 94.9 | 94.7 | 95.1 | 90.0 |
| M07-06.seq | 13 | 95.6 | 96.5 | 94.5 | 96.3 | 97.5 | 96.3 | 99.6 | 96.0 | 94.3 | 94.5 | 95.9 | 94.1 | * | 95.1 | 96.0 | 95.2 | 95.5 | 95.3 | 90.4 |
| M12.seq | 14 | 97.5 | 95.2 | 94.9 | 94.8 | 95.6 | 97.9 | 94.7 | 97.9 | 94.7 | 94.8 | 94.7 | 95.1 | 95.1 | * | 97.9 | 97.4 | 97.5 | 97.1 | 92.8 |
| M13.seq | 15 | 99.3 | 95.6 | 95.9 | 95.5 | 96.3 | 99.7 | 95.9 | 99.7 | 95.6 | 95.8 | 95.1 | 95.8 | 96.0 | 97.9 | * | 97.8 | 97.9 | 99.0 | 92.6 |
| M17.seq | 16 | 97.4 | 95.1 | 95.1 | 94.9 | 95.8 | 97.8 | 95.1 | 97.8 | 94.8 | 94.8 | 94.5 | 94.9 | 95.2 | 97.4 | 97.8 | * | 97.7 | 97.3 | 92.6 |
| M18.seq | 17 | 97.4 | 95.2 | 94.9 | 95.2 | 95.8 | 98.0 | 95.3 | 97.8 | 94.7 | 94.8 | 94.7 | 94.7 | 95.5 | 97.5 | 97.9 | 97.7 | * | 97.5 | 91.9 |
| M19.seq | 18 | 99.2 | 95.3 | 95.2 | 95.2 | 95.9 | 99.0 | 95.2 | 99.0 | 95.1 | 95.1 | 94.8 | 95.1 | 95.3 | 97.1 | 99.0 | 97.3 | 97.5 | * | 91.4 |
| AY497063.seq | 19 | 91.8 | 90.0 | 99.7 | 89.7 | 90.9 | 92.5 | 90.1 | 92.1 | 90.6 | 90.6 | 89.2 | 90.0 | 90.4 | 92.8 | 92.6 | 92.6 | 91.9 | 91.4 | * |

Cuadro 3: Porcentaje de homología (%) de las secuencias de nucleótidos del segmento de 812 pares de bases de longitud del gen del sitio de corte de la proteína HA de las cepas del virus de Influenza Aviar de Baja Patogenicidad subtipo H5N2 endémico de México del periodo 2002-2006, representadas por 18 cepas aisladas en varios estados de la República Mexicana de aves vacunadas que presentaron la forma clínica de la enfermedad y con respecto a las cepas de 1994, representadas por la cepa vacunal AY497063 A/Chicken/Hidalgo/232/94 HA. (*) 100% de homología.

| CUADRO 4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------|----|------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| IDENTIFICACIÓN DE LAS CEPAS | % | PORCENTAJES DE HOMOLOGÍA (%) | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 |
| M20.seq | 1 | * | 11.2 | 6.6 | 7.9 | 7.4 | 7.4 | 6.6 | 7.3 | 6.6 | 7.1 | 7.3 | 88.8 | 7.0 | 7.5 | 7.5 | 7.5 | 7.0 | 7.5 | 10.3 |
| M01-06.seq | 2 | 11.2 | * | 9.1 | 10.7 | 10.3 | 11.2 | 10.8 | 11.2 | 9.1 | 8.7 | 10.8 | 10.3 | 10.3 | 10.4 | 11.2 | 11.2 | 11.2 | 11.2 | 85.7 |
| M01-05.seq | 3 | 6.6 | 9.1 | * | 85.7 | 86.9 | 89.8 | 86.0 | 89.8 | 99.6 | 93.4 | 84.8 | 6.6 | 86.5 | 86.8 | 89.3 | 87.7 | 87.3 | 88.9 | 8.8 |
| M02-06.seq | 4 | 7.9 | 10.7 | 85.7 | * | 95.5 | 88.9 | 90.1 | 88.9 | 86.0 | 85.6 | 98.0 | 7.4 | 90.6 | 86.8 | 88.5 | 88.5 | 88.1 | 88.5 | 10.3 |
| M03-06.seq | 5 | 7.4 | 10.3 | 86.9 | 95.5 | * | 90.6 | 92.6 | 90.6 | 87.2 | 86.8 | 94.3 | 7.0 | 93.0 | 87.7 | 90.1 | 89.7 | 88.9 | 90.1 | 9.8 |
| M4.seq | 6 | 7.4 | 11.2 | 89.8 | 88.9 | 90.6 | * | 89.3 | 100 | 89.3 | 89.7 | 87.7 | 6.6 | 89.8 | 93.8 | 99.6 | 95.1 | 94.7 | 99.2 | 10.8 |
| M04-06.seq | 7 | 6.6 | 10.8 | 86.0 | 90.1 | 92.6 | 89.3 | * | 89.3 | 85.6 | 85.2 | 88.9 | 6.2 | 99.6 | 85.6 | 88.9 | 87.7 | 87.7 | 88.5 | 10.3 |
| M5.seq | 8 | 7.3 | 11.2 | 89.8 | 88.9 | 90.6 | 100 | 89.3 | * | 89.3 | 89.7 | 87.2 | 6.2 | 89.8 | 93.8 | 99.6 | 95.1 | 94.7 | 99.2 | 10.3 |
| M05-05.seq | 9 | 6.6 | 9.1 | 99.6 | 86.0 | 87.2 | 89.3 | 85.6 | 89.3 | * | 93.0 | 85.2 | 6.6 | 86.0 | 86.4 | 88.9 | 87.2 | 86.8 | 88.9 | 8.8 |
| M6.seq | 10 | 7.1 | 8.7 | 93.4 | 85.6 | 86.8 | 89.7 | 85.2 | 89.7 | 93.0 | * | 84.8 | 7.1 | 85.6 | 86.0 | 89.3 | 87.7 | 87.2 | 88.9 | 8.8 |
| M06-06.seq | 11 | 7.3 | 10.8 | 84.8 | 98.0 | 94.3 | 87.7 | 88.9 | 87.2 | 85.2 | 84.8 | * | 7.0 | 89.3 | 85.6 | 87.2 | 87.2 | 86.9 | 87.2 | 9.9 |
| M7.seq | 12 | 88.8 | 10.3 | 6.6 | 7.4 | 7.0 | 6.6 | 6.2 | 6.2 | 6.6 | 7.1 | 7.0 | * | 6.6 | 6.6 | 6.6 | 6.6 | 6.2 | 6.6 | 9.4 |
| M07-06.seq | 13 | 7.0 | 10.3 | 86.5 | 90.6 | 93.0 | 89.8 | 99.6 | 89.8 | 86.0 | 85.6 | 89.3 | 6.6 | * | 86.0 | 89.3 | 88.1 | 88.1 | 88.9 | 9.8 |
| M12.seq | 14 | 7.5 | 10.4 | 86.8 | 86.8 | 87.7 | 93.8 | 85.6 | 93.8 | 86.4 | 86.0 | 85.6 | 6.6 | 86.0 | * | 94.2 | 93.8 | 93.4 | 93.0 | 9.8 |
| M13.seq | 15 | 7.5 | 11.2 | 89.3 | 88.5 | 90.1 | 99.6 | 88.9 | 99.6 | 88.9 | 89.3 | 87.2 | 6.6 | 89.3 | 94.2 | * | 94.7 | 94.2 | 98.8 | 10.8 |
| M17.seq | 16 | 7.5 | 11.2 | 87.7 | 88.5 | 89.7 | 95.1 | 87.7 | 95.1 | 87.2 | 87.7 | 87.2 | 6.6 | 88.1 | 93.8 | 94.7 | * | 94.7 | 94.2 | 10.8 |
| M18.seq | 17 | 7.0 | 11.2 | 87.3 | 88.1 | 88.9 | 94.7 | 87.7 | 94.7 | 86.8 | 87.2 | 86.9 | 6.2 | 88.1 | 93.4 | 94.2 | 94.7 | * | 93.8 | 10.8 |
| M19.seq | 18 | 7.5 | 11.2 | 88.9 | 88.5 | 90.1 | 99.2 | 88.5 | 99.2 | 88.9 | 88.9 | 87.2 | 6.6 | 88.9 | 93.0 | 98.8 | 94.2 | 93.8 | * | 10.8 |
| AY497063.seq | 19 | 10.3 | 85.7 | 8.8 | 10.3 | 9.8 | 10.8 | 10.3 | 10.3 | 8.8 | 8.8 | 9.9 | 9.4 | 9.8 | 9.8 | 10.8 | 10.8 | 10.8 | 10.8 | * |

Cuadro 4: Porcentaje de homología (%) de las secuencias de aminoácidos del segmento de 812 pares de bases de longitud del gen del sitio de corte de la proteína HA de las cepas del virus de Influenza Aviar de Baja Patogenicidad subtipo H5N2 endémico de México del periodo 2002-2006, representadas por las 18 cepas aisladas en varios estados de la República Mexicana de aves vacunadas que presentaron la forma clínica de la enfermedad y con respecto a las cepas de 1994, representadas por la cepa vacunal AY497063 A/Chicken/Hidalgo/232/94 HA. (*) 100% de homología.