



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable

Caracterización molecular del virus de Influenza aviar en aves silvestres:
Identificación de marcadores de patogenicidad y análisis comparativo

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestro en Salud y Producción Animal Sustentable

Presenta

M.V.Z. Alejandro Jacobo Aranda Jimenez

Dirigido por

Dra. Gabriela Aguilar Tipacamú

Co-dirigido por

Dr. Inkar Alejandro Castellanos Huerta

Querétaro, Qro. a 07 de agosto de 2025

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable

Caracterización molecular del virus de Influenza aviar en aves silvestres:
Identificación de marcadores de patogenicidad y análisis comparativo

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestro en Salud y Producción Animal Sustentable

Presenta

MVZ. Alejandro Jacobo Aranda Jimenez

Dirigido por:

Dra. Gabriela Aguilar Tipacamú

Co-dirigido por:

Dr. Inkar Alejandro Castellanos Huerta

Dra. Gabriela Aguilar Tipacamú

Presidente

Dr. Inkar Alejandro Castellanos Huerta

Secretario

Dr. Víctor Manuel Petrone García

Vocal

Dr. Juan Joel Mosqueda Gualito

Vocal

MSPAS. Aída Olguín Barrera

Vocal

Centro Universitario, Querétaro, Qro.

Fecha de aprobación por el Consejo Universitario (mes y año)

México

Resumen

El virus de influenza tipo A es catalogado como un agente de importancia debido al gran impacto socio-económico y eco-epidemiológico que tiene en diversos hospedantes, en México inició su incursión con el subtipo H5N2 y posteriormente H7N3 estableciéndose que las aves acuáticas favorecen su transmisión y persistencia en la avicultura nacional. Motivo por el cual se busca evaluar las variaciones antigénicas y moleculares asociadas con la alta virulencia en cepas de aves domésticas en comparación con virus aislados de aves silvestres; y establecer relaciones evolutivas entre los virus de origen silvestre y domésticos circulantes en el país. Se evaluaron 73 marcadores para H5N2 y 43 para H7N3 en cepas aisladas que difieren en su dinámica espacio-temporal, y las relaciones evolutivas se determinaron mediante un análisis de inferencia filogenética en BEAST. Los árboles filogenéticos se construyeron con base a las variables de rasgos discretos empleando cadenas de Márkov para poder diseñar las redes de inferencia. Se complementó el análisis con una difusión espacio-temporal usando un software geoespacial. El análisis de las variaciones antigénicas indico que las cepas de campo han presentado y conservan sustituciones de aminoácidos asociadas con la adaptación y el incremento de su patogenicidad en los hospedantes, y con la inferencia filogeográfica se estableció que el linaje mexicano linajes se originó de poblaciones silvestres, pero son las aves domésticas las causantes de la permanencia y transmisión interespecie. Con base a los resultados, se establece que la producción avícola de México desempeña un rol eco-epidemiológico en la circulación del virus de influenza aviar, y que las aves silvestres cumplen su rol ecológico en su dispersión geográfica.

Palabras clave: linaje mexicano, H5N2, H7N3, fauna aviar silvestre, redes de inferencia, difusión geográfica.

Summary

Influenza A virus is classified as an agent of importance due to the great socio-economic and eco-epidemiological impact it has on various hosts, avian influenza virus began its incursion in Mexico with H5N2 subtype and subsequently H7N3 establishing that waterfowl their transmission and persistence in national poultry. Reason for seeking to evaluate antigenic and molecular variations associated with high virulence in strains of poultry compared to wild birds virus isolates, and establish evolutionary relationships between viruses of wild origin and domestic origin circulating in the country. Seventy-three markers for H5N2 and forty-three for H7N3 were evaluated in isolated strains that differed in their spatio-temporal dynamics, and evolutionary relationships were determined by phylogenetic inference analysis in BEAST. Phylogenetic trees were generated based on discrete trait variables using Markov chains to design inference networks. The analysis was complemented by a spatio-temporal diffusion using geospatial software. Analysis of antigenic variations indicates that the poultry strains have presented and retain amino-acid substitutions associated with adaptation and increased pathogenicity in the hosts, and with the phylogeographic inference it was established that Mexican lineages originated from wild populations, but poultry are the responsible for the evolution, persistence, and cross-species transmission. Based on the results, it is established that poultry production in Mexico plays an eco-epidemiological role in the circulation of avian influenza virus, and that wild birds play their ecological role in their geographical dispersion.

Keywords: Mexican lineage, H5N2, H7N3, wild avian fauna, inference networks, geographic spread.

Dedicatorias

A mi mamá y mi abuelita.

Dos grandes mujeres que son mi ejemplo a seguir y que agradezco a la vida quien tuvo el privilegio de poner en su camino ya que con su gran amor he podido llegar a donde estoy.

A mi papá.

Gracias por tu amor y tu invaluable paciencia, que sin importar los retos siempre me enseñaste a ser la mejor versión de mí y en saber aprovechar el día a día.

Agradecimientos

A la **Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ciencias Naturales, y Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable**

Por brindarme la oportunidad de realizar un estudio de posgrado.

A la **Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación**

Por el apoyo para la realización del trabajo de investigación

Al **Dr. Inkar Castellanos Huerta**

Por la confianza, enseñanzas, consejos y oportunidad de poder colaborar con usted en el desarrollo de este trabajo de investigación; así como en su apoyo y guía en mi formación académica y personal.

A la **Dra. Gabriela Aguilar Tipacamú**

Por ofrecerme la posibilidad de trabajar junto a ella en un entorno académico y en brindarme su amistad.

A la **Dra. Varinia López Ramírez**

Por brindarme su apoyo, asesoría y enseñanzas en el campo de la bioinformática aplicada a la virología veterinaria, y agradecer su apoyo en la revisión del trabajo de investigación

Al **Dr. Víctor Manuel Petrone García, Dr. Juan Joel Mosqueda Gualito, y MSPAS Aída Olguín Barrera miembro del comité tutorial**

Por la revisión del presente trabajo de investigación

A la **Tec. Yessenia y Tec. Alejandra**

Por la valiosa experiencia, guía, consejos y conocimientos aportados para mi formación académica.

A **Esmeralda, Karen, Erika, Luzcelly, mis hermanos que junto con todos aquellos seres y personas que llevo en mente y alma**, me ayudaron a valorar la persona que soy.

***“Las consecuencias de nuestras acciones
son siempre tan complicadas, tan diversas,
que predecir el futuro resulta ser difícil”***

Maggie Smith

Índice

	Página
Resumen	i
Summary	ii
Dedicatorias	iii
Agradecimientos	iv
Índice	v
Índice de cuadros.....	vii
Índice de figuras.....	viii
Anexo.....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES	3
2.1. Historia	3
2.1.1. Influenza aviar y pandemias humanas	4
2.1.2. Influenza aviar en México.....	6
2.2. Etiología	10
2.2.1. Morfología	10
2.2.2. Clasificación	14
2.2.3. Factores de patogenicidad	18
2.2.4. Mecanismos de evolución	23
2.3. Epidemiología.....	27
2.3.1. Hospedante	28
2.3.2. Distribución.....	32
2.3.3. Influenza aviar en aves silvestres de México	34
2.4. Influenza aviar de alta patogenicidad	35
2.4.1. Evolución del linaje Gs/Gd	36
2.4.2. Surgimiento y propagación en América	40

2.5. Diagnóstico.....	43
2.5.1. Aislamiento viral	44
2.5.2. Detección de antígenos.....	45
2.5.3. Detección molecular	45
III. JUSTIFICACIÓN	47
IV. HIPÓTESIS	48
V. OBJETIVOS	49
5.1. Objetivo general	49
5.2. Objetivos específicos	49
VI. METODOLOGÍA.....	50
6.1. Bioética.....	50
6.2. Obtención de secuencias de nucleótidos	50
6.3. Numeración de marcadores moleculares asociados con patogenicidad	51
6.4. Árbol de máxima credibilidad de clado	52
6.5. Difusión filogeográfica	53
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	54
7.1. Evaluación de virus H5N2 de México.....	54
7.1.1. Identificación de marcadores de patogenicidad	54
7.1.2. Análisis filogenéticos	62
7.1.3. Difusión geográfica.....	64
7.2. Evaluación del virus H7N3 de México	69
7.2.1. Identificación de marcadores de patogenicidad	69
7.2.2. Análisis filogenéticos	75
7.2.3. Difusión geográfica.....	77
VIII. CONCLUSIÓN	85
IX. BIBLIOGRAFÍA	86

Índice de cuadros

Cuadro		Página
1	Subtipos de Influenza aviar aislados en México.....	35
2	Marcadores de patogenicidad de cada proteína viral en cepas H5N2..	55
3	Marcadores moleculares identificados en H5N2 de 2017 -2024.....	61
4	Distancias genéticas entre grupos para el gen HA de H5.....	62
5	Distancias genéticas entre grupos para el gen NA de N2.....	63
6	Marcadores de patogenicidad de cada proteína viral en cepas H7N3..	70
7	Marcadores moleculares identificados en H7N3 de 2009 – 2023.....	74
8	Distancias genéticas entre grupos del gen HA de H7.....	75
9	Distancias genéticas entre grupos del gen NA de N3.....	76

Índice de figuras

Figura	Página
1 Cronología de principales eventos en la historia de la influenza aviar.....	5
2 Brotes de IAAP H5N1 clado 2.3.4.4b linaje Gs/Gd en México.....	9
3 Estructura del vRNA del virus de Influenza.....	11
4 Estructura del complejo vRNP y codificación de vRNA en los virus de Influenza	13
5 Representación filogenética de HA y NA para los virus de influenza.....	16
6 Esquematización del procesamiento de HA0.....	18
7 Estructura de la hemaglutinina en los virus de Influenza tipo A.....	20
8 Interacciones inter-vRNA en un reordenamiento genético.....	25
9 Subtipos de HA y NA identificados en diferentes hospedantes.....	29
10 Principales rutas y patrones migratorios de las aves silvestres.....	33
11 Evolución genética del gen HA en virus del linaje Gs/Gd IAAP H5N1.....	38
12 Formación del virus H5N1 clado 2.3.4.4b.....	41
13 Tiempos relativos para determinar una infección del virus de Influenza....	44
14 Secuencia del HACS en virus H5N2.....	57
15 Difusión geográfica del gen HA del virus H5N2 de México.....	65
16 Red de inferencia de transmisión entre hospedantes para HA de H5N2...	66
17 Difusión geográfica del gen NA del virus H5N2 de México.....	67
18 Red de inferencia de transmisión entre hospedantes para NA de H5N2....	68
19 Secuencia del HACS en virus H7N3.....	69
20 Difusión geográfica del gen HA del virus H7N3 de México.....	78
21 Red de inferencia de transmisión entre hospedantes para HA de H7N3...	79
22 Difusión geográfica del gen NA del virus H7N3 de México.....	80
23 Red de inferencia de transmisión entre hospedantes para NA de H7N3....	81
24 Difusión geo-espacial de los segmentos genómicos del virus H5N2 en las Américas.....	82
25 Difusión geo-espacial de los segmentos genómicos del virus H5N2 en las Américas.....	83

Anexo

Anexo	Página
I Número de identificación de GenBank de H5N2, H7N3 y otros subtipos.	126
II Análisis de máxima credibilidad de clado del gen HA de H5N2.....	127
III Análisis de máxima credibilidad de clado del gen NA de H5N2.....	129
IV Red de inferencia filogeográfica de la transmisión de H5N2.....	131
V Análisis de máxima credibilidad de clado del gen HA de H7N3.....	133
VI Análisis de máxima credibilidad de clado del gen NA de H7N3.....	135
VII Red de inferencia filogeográfica de la transmisión de H7N3.....	137

I. INTRODUCCIÓN

El virus de Influenza aviar es catalogado como un agente etiológico con un gran potencial zoonótico (Abdelwhab y Mettenleiter, 2023), que tuvo su origen en Italia 1878 (Perroncito, 1878) y que hasta mediados del siglo XX una característica representativa fue que emergieron debido a un fenómeno eco-epidemiológico (Hill *et al.*, 2022) donde la participación de sus reservorios naturales (Harvey *et al.*, 2023) fue clave para la el surgimiento de los subtipos de influenza aviar de alta patogenicidad (IAAP) H5 y H7 en poblaciones de aves domésticas a nivel mundial (Brown *et al.*, 2017; Shi y Gao, 2021; Swayne *et al.*, 2020).

Si bien las aves silvestres, en especial las especies acuáticas son consideradas los hospederos responsables de la persistencia ecológica del agente (Stallknecht y Brown, 2017; Russell *et al.*, 2018), no son las únicas, ya que la participación conjunta de diversas especies de mamíferos y aves que actúan como hospederos intermediarios o puente (Shinya *et al.*, 2009; Bogs *et al.*, 2011; Caron *et al.*, 2015; Bourret, 2018) han desempeñado también un papel en la adquisición y persistencia de mutaciones claves para la adaptación del virus hacia nuevos hospederos (Abdelwhab y Mettenleiter, 2023). Dicho panorama se evidenció cuando emergieron los virus del linaje A/goose/Guangdong/1/1996 (GsGd) (Harvey *et al.*, 2023; Rashid *et al.*, 2023) los cuales presentaron la peculiaridad de causar brotes de IAAP en diversas poblaciones de aves silvestres, característica que no se observaba desde 1961 (Rowan, 1962; Becker, 1966). También desarrollaron un cambio en su dinámica epidemiológica al incrementar su rango de hospederos generando afecciones en diversas especies de hospederos mamíferos (Venkatesan, 2023), ya que desde su surgimiento en 1996 el 92% de los brotes en mamíferos se presentaron principalmente en carnívoros (félidos, cánidos y mustélidos). Sin embargo, en el clado actual el 58% de los casos se han notificado en cánidos, úrsidos, félidos y mustélidos; y un 27% en cetáceos y pinnípedos (Plaza *et al.*, 2024).

Debido al origen evolutivo del virus de influenza aviar y su adaptabilidad hacia nuevos hospederos a través de la adquisición de diversas mutaciones, el presente trabajo se centra en describir y detectar el grado de las variaciones antigénicas y moleculares asociadas con su alta virulencia y adaptabilidad hacia las aves de producción y especies de mamíferos, que pudieran estar presentes en los virus de influenza circulantes en poblaciones de aves silvestres que cohabitan en el territorio nacional en relación con los virus prevalentes y reportados en aves de producción de México, donde las cepas de IAAP H5N2 y H7N3 que emergieron en 1993 y 2012 respectivamente, actualmente, se consideran endémicos en las poblaciones de aves domésticas del país (Navarro-Lopez *et al.*, 2022; Xu *et al.*, 2022).

II. ANTECEDENTES

El virus de influenza aviar (vIA) categorizado como un agente patógeno importante en el ámbito de la salud humana y veterinaria (Hautefeuille *et al.*, 2020; Suarez, 2017) debido a su gran potencial zoonótico (Abdelwhab y Mettenleiter, 2023; Charostad *et al.*, 2023); ya que al ser un virus circulante en la naturaleza a causa de sus hospedantes naturales ha permitido que sea uno de los patógenos con mayor persistencia histórica en el planeta (Prosser *et al.*, 2016; van der Kolk, 2019), puesto que tiene la factibilidad de afectar diversas especies de aves y mamíferos (Suarez, 2017). Conociendo la naturaleza de este agente, se han catalogado sus infecciones a lo largo de la historia, gracias a los conocimientos obtenidos en el ámbito ecológico, epidemiológico y filogenético (Swayne, 2017; Swayne *et al.*, 2020).

2.1. Historia

Históricamente, la palabra “*Influenza*” se empleaba para referirse a epidemias agudas de fiebres catarrales en humanos (Swayne *et al.*, 2020), sin embargo, el panorama cambió a finales del siglo XIX con la aparición de brotes de una enfermedad no bacteriana que ocasionó una alta de mortalidad en aves domésticas al norte de Italia (Lee *et al.*, 2021; Lycett *et al.*, 2019), donde Perroncito, en 1878, realizó la primera descripción de la influenza aviar, confundiéndola con la presentación septicémica del cólera aviar (Perroncito, 1878), no obstante, en 1880, Rivolta y Delprato demostraron que ambas enfermedades presentaban ciertas diferencias, nombrando a la enfermedad inicialmente como “*tifus exudativo gallinarum*” (Rivolta y Delprato, 1880). Sin embargo, fue denominada poco tiempo después como “*peste aviar*” (Lupiani y Reddy, 2009; Lycett *et al.*, 2019), aunque dependiendo la región en la que fueron identificados los brotes desde 1894 a 1930, se le llegó a conocer también bajo el nombre de plaga aviar, Geflügel-Pest, plaga aviar de Brunswick, enfermedad de Brunswick o gripe aviar (Swayne, 2017). No fue hasta décadas más tarde, cuando en 1955, Schäfer determinó que el virus de la

peste aviar (FPV) descrito por Rivolta y Delprato en 1880, era realmente el virus de influenza tipo A (Schäfer, 1955); el cual a finales del siglo XX, en 1981, se le aplicó una nomenclatura oficial para clasificarlo como virus de influenza de alta patogenicidad (IAAP) y virus de influenza de baja patogenicidad (IABP) (Lupiani y Reddy, 2009; Swayne, 2017).

En un panorama general, sin tomar en cuenta el patotipo todos los casos ocasionados por el virus de influenza tipo A en aves domésticas, así como, en poblaciones de aves silvestres, se han ido registrando desde hace más de un siglo (Figura 1) (Parums, 2023), lo que ha favorecido que los brotes que tuvieron impacto a nivel mundial se clasificarán en 5 eventos principales (Swayne, 2017):

1. Identificación de la influenza aviar (peste aviar) en aves domésticas, con base en la signología, lesiones y estudios realizados en las aves.
2. Reconocimiento del virus IABP y su capacidad de generar infecciones en aves domésticas.
3. Descubrimiento de la influenza aviar en aves silvestres.
4. Descubrimiento de que los virus IAAP derivan de mutaciones de los subtipos H5 y H7 de virus IABP.
5. Surgimiento del virus IAAP H5N1 linaje A/goose/Guangdong/1/1996 (Gs/Gd), con la aparición de múltiples reordenamientos y episodios de transmisión hacia aves silvestres.

2.1.1. Influenza aviar y pandemias humanas

Desde inicios del siglo XX se han registrado pandemias importantes en humanos causadas por virus de influenza tipo A (Yang *et al.*, 2022; Parums, 2023) (Figura 1). El primer registro se presentó en 1918 (gripe española), causada por el virus H1N1 (Lycett *et al.*, 2019; Yang *et al.*, 2022); consecutivamente se registraron los siguientes eventos producidos por los subtipos: H2N2 en 1957 (gripe asiática), H3N2 en 1968 (gripe de Hong Kong), H1N1 en 1977 (gripe Rusa) la cual afectó

principalmente a población menor a 25 años (Shi *et al.*, 2014) y finalmente, H1N1 en 2009 (gripe porcina) (Targonsky y Poland, 2017; Lycett *et al.*, 2019; Yang *et al.*, 2022). Estas pandemias se asociaron a los vIA; sin embargo, no fue hasta 1967, cuando Pereira, Tumova y Webster establecieron la relación entre los virus aviares y humanos, al encontrar una reactividad antigénica cruzada entre los virus H2N2 de humanos con el virus H6N2 aislados de aves (Pereira *et al.*, 1967).

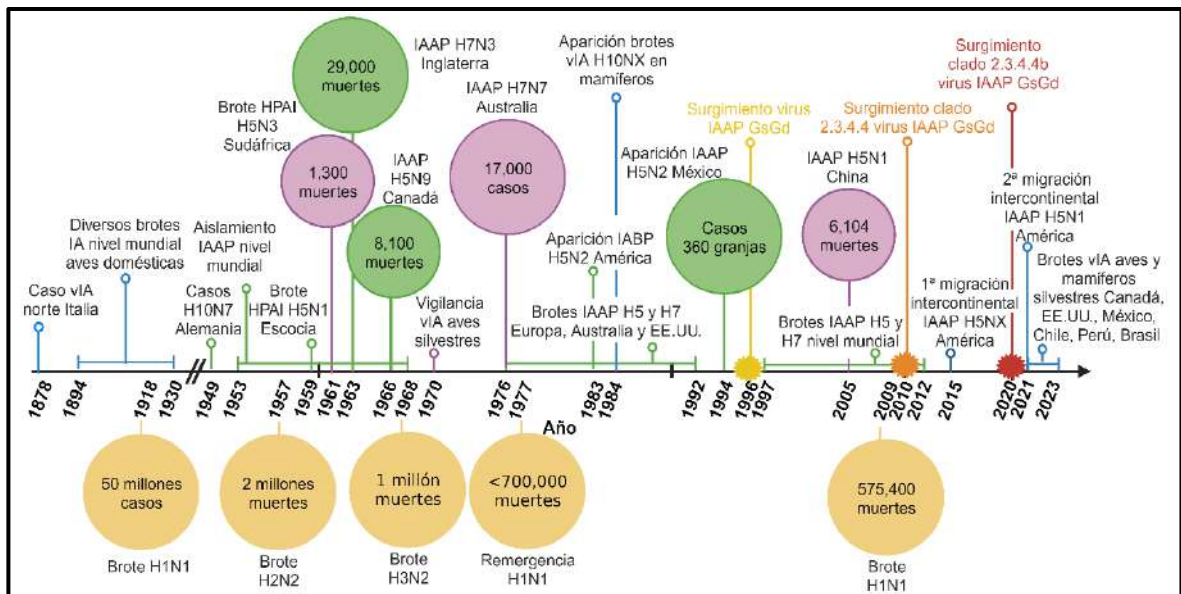


Figura 1. Cronología de principales eventos en la historia de la influenza aviar. Representado en azul eventos generales vIA, verde en aves domésticas, morado en aves silvestres y café en humanos¹.

Actualmente se ha identificado que los vIA aportaron segmentos genómicos para la generación de los agentes causantes de cada pandemia a través del cruzamientos interespecie (Yang *et al.*, 2022; Abdelwhab y Mettenleiter, 2023), con lo que se aclara el alto potencial zoonótico del agente, ya que la transmisión puede darse directamente de las aves al humano o mediante virus reagrupados en hospedantes intermediarios que sirven como “recipientes de mezcla” (Abdelwhab y Mettenleiter, 2023). Estos tipos de transmisión fueron determinados en cada

¹ Se consultaron las siguientes fuentes para elaborar la Figura 1 (Alexander, 2000; Lupiani y Reddy, 2009; Swayne, 2017; Lycett *et al.*, 2019; van der Kolk, 2019; Lee *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2022; CDC, 2022; Harvey *et al.*, 2023; OPS y OMS, 2023).

pandemia; por ejemplo, para la pandemia de 1918, se estableció que fue originada por la adaptación directa de un vIA hacia el humano (Watanabe *et al.*, 2012), debido a que se tiene evidencia que presentaba reordenamientos entre un subtipo de hemaglutinina (HA) humano, los genes internos de neuraminidasa (NA) aviar, junto con los 6 genes internos restantes de origen aviar, así como genes que derivan de un linaje equino H7N7, introducido a las aves a finales del siglo XIX (Steel y Lowen, 2014; Cox *et al.*, 2017). En el caso de las pandemias de 1957 y 1968, virus de influenza humana presentaba reordenamientos con segmentos genómicos de HA y proteína básica 1 (PB1) de origen aviar; y para el año de 2009, se dio un reordenamiento interespecífico, dando origen a un virus que contenía genes de proteína básica 2 (PB2) y de polimerasa ácida (PA) de virus aviares, PB1 de virus humanos y los segmentos restantes de dos diferentes linajes de virus porcinos (Watanabe *et al.*, 2012; Cox *et al.*, 2017; Thompson y Paulson, 2021).

En todas las pandemias humanas registradas existió la presencia de reordenamientos que llevaron a la adaptación del virus hacia su nuevo hospedante, sin embargo, desde 1997, en Hong Kong se empezaron a notificar casos de infección directa en humanos con vIA circulante en poblaciones de aves domésticas (Farahat *et al.*, 2023); y hasta la fecha, los últimos casos reportados han sido por el virus de IAAP H5N1 linaje GsGd, que ha provocado brotes no solo en humanos, sino también en mamíferos terrestres, marinos y en diversas especies de aves silvestres (EFSA *et al.*, 2023; OPS y OMS, 2023).

2.1.2. Influenza aviar en México

En México, se tiene evidencia de que el virus H5N2 ha estado presente en las poblaciones de aves domésticas durante más de dos décadas; siendo el aislamiento del virus de IABP H5N2 en 1993, denominado A/chicken/Mexico/31381-7/93, la primera evidencia que se tiene de vIA en el territorio nacional (Xu *et al.*, 2022). Un año más tarde, se detectó el virus IABP H5N2, nombrado A/chicken/Mexico/31381-7/1994, el cual fue filogenéticamente relacionado con los

virus de IAAP H5N2 responsable de los brotes en EE.UU. de 1983 a 1984 (Perez y de Wit, 2017); sin embargo, a finales de otoño de dicho año, el virus tuvo mutaciones que dieron origen al virus de IAAP H5N2 (A/chicken/Puebla/8623-607/1994) que generó la muerte de 2 millones de gallinas ponedoras en Puebla (Montalvo-Corral *et al.*, 2010; Perez y de Wit, 2017; Xu *et al.*, 2022), y para inicios del año siguiente, unos virus similares, el A/chicken/Queretaro/14588_19/1995, y A/chicken/Queretaro/7653_20/1995; que surgieron en Querétaro afectaron a 20 millones de pollos (Perez y de Wit, 2017; Lee *et al.*, 2021; Xu *et al.*, 2022). Actualmente los virus IABP H5N2 descendientes de ese linaje, se han vuelto endémicos en las poblaciones de aves domésticas del país (Perez y de Wit, 2017; Xu *et al.*, 2022). En 2012, se dio la aparición del virus IAAP H7N3 (A/chicken/Jalisco/12283/CPA1/2012), el cual mediante análisis filogenéticos y filogeográficos sugiere que los virus de IABP presentes en el pato de la especie *Anas carolinensis* actuaron como donadores de componentes genómicos virales para el surgimiento de este subtipo de IA (Lu *et al.*, 2014a; Swayne *et al.*, 2020; Youk *et al.*, 2022). Actualmente continua generando la presencia de casos en aves domésticas, pero no en igual magnitud como el brote ocurrido en 2012, que ocasionó pérdidas de aproximadamente \$475 millones de dólares y la matanza de más de 22.4 millones aves en el país (Afanador-Villamizar *et al.*, 2017).

Sin embargo, en diciembre de 2021 en Canadá se registró el primer brote por un virus de IAAP H5N1 de linaje Gs/Gd en America (Caliendo *et al.*, 2022; Günther *et al.*, 2022; Harvey *et al.*, 2023), y no fue hasta el 13 de octubre de 2022 que en México se presentó el primer caso de IAAP H5N1 linaje Gs/Gd clado 2.3.4.4b en un halcón gerifalte (*Falco rusticolus*) en el Estado de México (Navarro-López *et al.*, 2023^a). En el caso de las aves domésticas, el primer pico de la enfermedad se detectó en Nuevo León y Sonora, con la aparición de 11 brotes a finales de octubre de 2022 (Navarro-López *et al.*, 2023^b; OPS y OMS, 2023), seguido de un segundo pico en Jalisco y Yucatán a finales de noviembre de 2022, y el último pico se presentó en Yucatán donde se reportaron 6 brotes a principios de enero de 2023

(Navarro-López *et al.*, 2023^b). En un panorama general para el virus de IAAP H5N1 se registraron 56 brotes a lo largo del territorio nacional, de los cuales 16 brotes se presentaron en aves silvestres y 40 en aves domésticas registrados hasta el 21 de marzo de 2023 (Navarro-López *et al.*, 2023^b; OMSA y WAHIS, 2023) (Figura 2). La Comisión México-Estados Unidos para la prevención de la fiebre aftosa y otras enfermedades exóticas de los animales (CPA), junto con el Dispositivo Nacional de Emergencia de Sanidad Animal (DINESA), y de acuerdo con los registros obtenidos hasta la segunda semana epidemiológica (SEM) de 2023, se estimó que aproximadamente 5,981,105 de aves domésticas y silvestres estuvieron expuestas, y cerca de 5,325,124 murieron a causa de la enfermedad (Navarro-López *et al.*, 2023^a), estimándose pérdidas económicas de 2,633 millones de pesos para el sector avícola para finales 2022 (SENASICA, 2023).

Debido a la ausencia de brotes de H5N1 en el territorio nacional desde junio de 2023, la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER) publicó el 04 de octubre en el Diario Oficial de la Federación el **ACUERDO por el que se declara al territorio de los Estados Unidos Mexicanos, como zona libre de Influenza Aviar tipo A, subtipo H5N1** (SADER, 2023). Sin embargo, el estatus zoosanitario del país se modificó el 05 de octubre de 2023 cuando el estado de Jalisco confirmó la presencia de un caso de H5N1 en una cerceta de ala verde (*Anas crecca*) marcando el inicio de rebrotes en poblaciones de aves silvestres en los estados de Veracruz, Jalisco y Guanajuato; y en aves domésticas hubo rebrotes en el estado de Sonora el 25 de octubre de 2023 (WOAH y WAHIS, 2023; Alcazar *et al.*, 2024) (Figura 2), y el día 28 en un centro de acopio en Celaya, Guanajuato se reportó un brote de IAAP H5Nx en aves provenientes de Jalisco (Alcazar *et al.*, 2024). Por lo que ante la presencia de rebrotes de la IAAP H5N1 en México se publicó a finales del 2023 el **ACUERDO mediante el cual se activa, integra y opera el Dispositivo Nacional de Emergencia de Sanidad Animal, para el control y, en su caso, erradicación de la Influenza Aviar de Alta Patogenicidad A, subtipo H5N1, así como para prevenir su diseminación dentro del territorio nacional** (SADER, 2023^a) con el

2.2. Etiología

El agente responsable de generar las manifestaciones clínicas de la Influenza aviar (IA) es miembro de uno de los géneros de la familia *Orthomyxoviridae* caracterizada por contar con un genoma de RNA monocatenario de sentido negativo segmentado (ssRNA (-)) (Bouvier y Palese, 2008; Mueller *et al.*, 2010; Abdelwhab y Abdel-Moneim, 2019; Suarez, 2017). Dentro de todos los géneros que conforman a esta familia se distinguen cuatro géneros de interés: *Alphainfluenzavirus*, *Betainfluenzavirus*, *Gammainfluenzavirus* y *Deltainfluenzavirus* (Skelton y Huber, 2022; Abdelwhab y Mettenleiter, 2023); conformados de una sola especie, denominados respectivamente como virus de Influenza tipo A (Influenza A), tipo B (Influenza B), tipo C (Influenza C) y tipo D (Influenza D) (Skelton y Huber, 2022; Spickler, 2022; Abdelwhab y Mettenleiter, 2023). Sin embargo, también se pueden nombrar como virus de influenza α (IAV), β (IBV), γ (ICV) y δ (IDV) (Uribe *et al.*, 2022).

2.2.1. Morfología

El vIA presenta una forma pleomórfica, una envoltura de bicapa lipídica obtenida de la membrana plasmática de la célula de su hospedante (Nakatsu *et al.*, 2018; Doms *et al.*, 2019; Aljabali *et al.*, 2021), y un genoma conformado por ocho segmentos de ssRNA (-), que codifica de 10 a 18 genes dependiendo la cepa y que través del empalme de RNAm o sitios de traducción alternativos, producen diversas proteínas virales como PB1-F2, PB1-N40, PA-N155, PA-N182, PA-X, M42, NS3 y NEG8 (NSP) (Mueller *et al.*, 2010; Vasin *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2016; Lamb, 2020; Thompson y Paulson, 2021; Chauhan y Gordon, 2022; AbuBakar *et al.*, 2023). Independiente la especie del virus de influenza todos cuentan con la misma organización en los RNA virales (vRNA) (Figura 3), presentando un cuadro de lectura abierto (ORF) central con una orientación de antisentido (Isel *et al.*, 2016) el cual que puede codificar una o más proteínas dependiendo el segmento viral. El cual está flanqueado lateralmente por regiones no traducidas (UTR) de 19 a 58

nucleótidos de longitud, conformada a su vez por las regiones no codificantes específicas de cada segmento (ssNCR), y secuencias conservadas universales (UNI) siendo de 12 nucleótidos en el extremo 3' y 13 nucleótidos en el extremo 5' en los IAV (Liang *et al.*, 2005; Gerber *et al.*, 2014; McDonald *et al.*, 2016; Piasecka *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2021; AbuBakar *et al.*, 2023), de 9 y 10 nucleótidos respectivamente para los IBV (Koutsakos *et al.*, 2016), y de 11 y 12 nucleótidos respectivamente en cada extremo para los ICV e IDV (Su *et al.*, 2017).

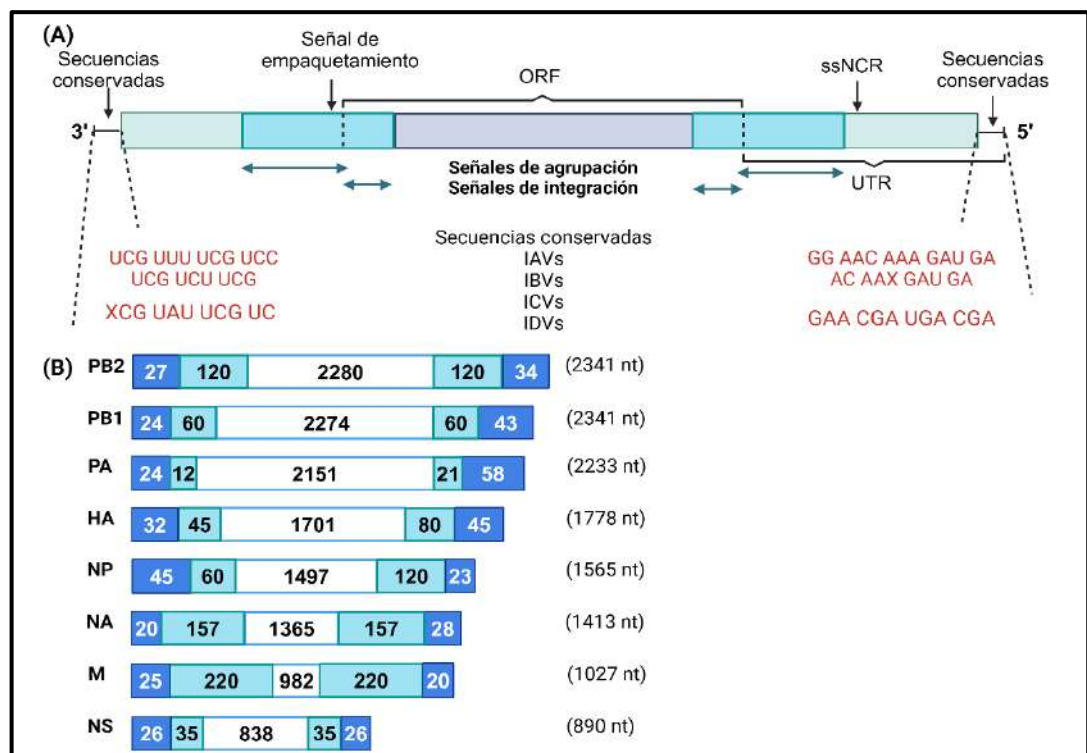


Figura 3. Estructura del vRNA del virus de Influenza.

(A) Esquema de la organización de un vRNA, se visualizan sus tres componentes: 1) las UTR, 2) las señales de empaquetamiento, y 3) los ORF, que son las regiones codificantes. En las secuencias conservadas en la posición 6 del extremo 5' algunos segmentos de los IBV presentan uracilo (U) o adenina(A). En cambio, los ICV e IDV presentan citosina (C) u uracilo (U) en la posición 1 del extremo 3'. (B) Muestra la organización de los segmentos en los IAV, representado con azul oscuro UTR, azul claro las señales de empaquetamiento y los números indican la longitud de nucleótidos para cada región³.

³ Se consultaron las siguientes fuentes para elaborar la Figura 3, (Hoffmann *et al.*, 2001; Gerber *et al.*, 2014; Breen *et al.*, 2016; Koutsakos *et al.*, 2016; McDonald *et al.*, 2016; Su *et al.*, 2017; Shafiuddin y Boon, 2019; Fodor y Te Velhuis, 2020; Li *et al.*, 2021; Noda, 2021; Chauhan y Gordon, 2022; AbuBakar *et al.*, 2023).

También presentan un área de señal de empaquetamiento conformado por una zona de regiones no codificantes y codificantes adyacentes a los extremos 3' y 5' (Hutchinson *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2021), dicha área a su vez, se divide en dos regiones: las señales de incorporación, responsables del empaquetamiento de cada segmento de vRNA (Noda, 2021); y las señales de agrupación, que participan en el empaquetamiento completo de los 8 segmentos del genoma, en las interacciones intersegmentos y el empaquetamiento selectivo del vRNA (Shafiuddin y Boon, 2019; Noda, 2021) (Figura 3).

Cada uno de estos segmentos genómicos se encuentran formando complejos integrados por un homopolímero de nucleoproteína (NP) viral que se unen longitudinalmente a cada vRNA (Gerber *et al.*, 2014; McDonald *et al.*, 2016; Chauhan y Gordon, 2022; AbuBakar *et al.*, 2023; Du *et al.*, 2023), se ha determinado que al homopolímero lo integran aproximadamente 66 monómeros de NP, que se unen al genoma viral en regiones ricas en guanina (G) y pobres en uracilo (U) (Lee *et al.*, 2017), llegando a interactuar con fragmentos cortos del mismo abarcando desde 12 hasta 26 nucleótidos (Lee *et al.*, 2017; Williams *et al.*, 2018) y presentando una distancia de 25 nucleótidos entre cada sitio de unión (Williams *et al.*, 2018), denominándose a estas zonas como regiones libres de NP o vRNA desnudo, las cuales formarán estructuras secundarias o terciarias que sobresalen en forma de varilla retorcida y que tendrán un papel clave en la interacciones intersegmentos (Shafiuddin y Boon, 2019; Noda, 2021) (Figura 4B). Adicionalmente, se tiene a un complejo heterotrimérico de RNA polimerasa dependiente de RNA (RdRp), conformado por el ensamble de las proteínas: polimerasa ácida (PA), polimerasa básica 1 (PB1) y polimerasa básica 2 (PB2) en dicho orden (a través de sus extremos amino a carboxilo); al cual se ensamblará el vRNA, a través de la unión de los extremos 3' y 5' debido a que son parcialmente complementarios entre ellos (Stubbs y Te Velhuis, 2014; McDonald *et al.*, 2016; Chauhan y Gordon, 2022; Du *et al.*, 2023); a dicho conjunto de moléculas se le denomina como complejo

ribonucleoproteína viral (vRNP) (Gerber *et al.*, 2014; Chauhan y Gordon, 2022) (Figura 4A).

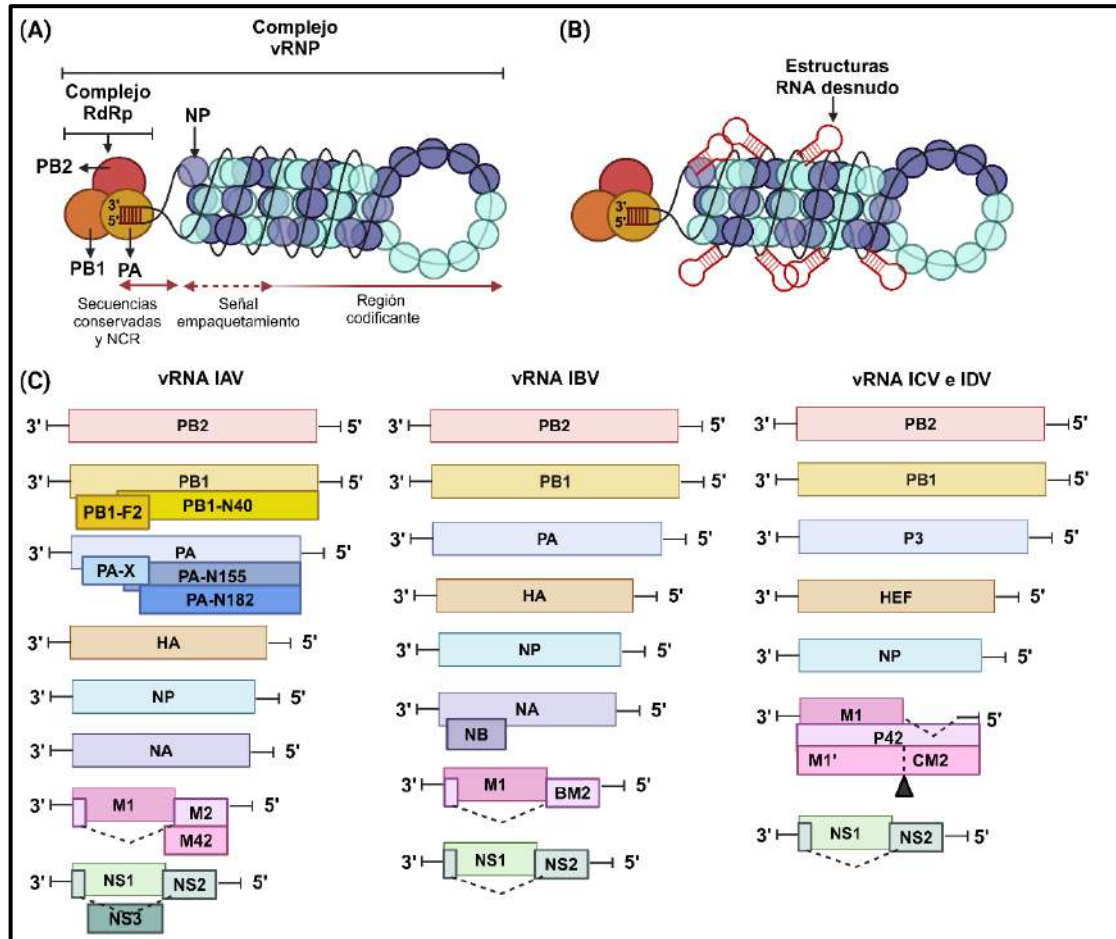


Figura 4. Estructura del complejo vRNP y codificación de vRNA en los virus de Influenza (A) Ejemplifica la estructura del complejo vRNP, (B) modelo de una vRNP con estructuras secundarias y/o terciarias conformadas de vRNA libre de NP, y (C) diagrama de proteínas codificadas a partir de cada segmento genómico en las diferentes especies del virus de Influenza⁴.

Aunque las especies cuentan con la misma organización en sus vRNP y ssRNA (-), solamente los IAV e IBV se componen de 8 segmentos, a diferencia de los ICV e IDV que presentan 7 segmentos genómicos (Neumann y Kawaoka, 2011; Su *et al.*, 2017; Yu *et al.*, 2021) (Figura 4C). Los IAV codifican de 9 a 17 proteínas,

⁴ Se consultaron las siguientes fuentes para elaborar la Figura 4 (Chauhan y Gordon, 2022; Gerber *et al.*, 2014; Koutsakos *et al.*, 2016; McDonald *et al.*, 2016; Muraki y Hongo, 2010; Noda, 2021; Su *et al.*, 2017; Vasin *et al.*, 2014).

a diferencia de los IBV que codifican 9 proteínas estructurales y 2 no estructurales (Hatta *et al.*, 2004; Neumann y Kawaoka, 2011), de las cuales 4 son proteínas de envoltura (Dou *et al.*, 2018; Abdelwhab y Mettenleiter, 2023), HA (hemaglutinina), NA (neuraminidasa), la proteína NB y en lugar de la proteína de matriz 2 (M2) como en los IAV, codifican la proteína BM2 (Hatta y Kawaoka, 2003; Neumann y Kawaoka, 2011; Abdelwhab y Abdel-Moneim, 2019). Los ICV e IDV codifican 6 proteínas estructurales y 3 no estructurales (Muraki y Hongo, 2010; Neumann y Kawaoka, 2011; Abdelwhab y Abdel-Moneim, 2019) (Figura 4), donde a partir del segmento 4 codifican su proteína de superficie principal, denominada proteína de fusión de hemaglutinina-esterasa (HEF) que funcionalmente correspondería a la HA y NA de los IAV e IBV (Bouvier y Palese, 2008; Dou *et al.*, 2018; Abdelwhab y Mettenleiter, 2023). Aunque tengan variaciones en su número de segmentos y codificación de proteínas, todos presentarán una conformación “7+1” de sus complejos de vRNP; los cuales adquieren la organización de un segmento central rodeado por otros siete, incluyendo los ICV e IDV con sus genomas de 7 segmentos (Gerber *et al.*, 2014; Shafiuddin y Boon, 2019; Li *et al.*, 2021).

2.2.2. Clasificación

Debido a que existen 4 especies diferentes de virus de influenza, se han implementado 3 métodos de clasificación para poder discernir entre cada tipo. La primera se basa en reacciones serológicas de la proteína de matriz 1 (M1) y de NP (Jang y Seong, 2019; Uribe *et al.*, 2022). Mediante la cual serán agrupados en influenza tipo A, presente en una amplia gama de hospedantes, donde las aves silvestres actúan como reservorios naturales, llegando a tener como especies susceptibles a las aves domésticas, así como, felinos, caninos, equinos, porcinos y humanos, llegando a infectar también mamíferos marinos (Skelton y Huber, 2022; Uribe *et al.*, 2022). En tipo B que se limitan usualmente al humano, pero de igual manera pueden infectar a mamíferos marinos y porcinos (Ran *et al.*, 2015; Koutsakos *et al.*, 2016; Long *et al.*, 2019;) y en tipo C, reportado únicamente en humanos, porcinos y caninos (Muraki y Hongo, 2010; Long *et al.*, 2019). Sin

embargo, en 2011 emergió un nuevo virus de influenza tipo C en EE.UU., que al no presentar reactividad cruzada con estos virus fue clasificado como tipo D en 2016 (Collin *et al.*, 2015; South Dakota State University, 2016); estando presente en bovinos, porcinos, equinos, cabras, ovejas y camellos (Su *et al.*, 2017; Yu *et al.*, 2021).

La segunda clasificación va relacionada con la caracterización antigénica de sus proteínas de superficie en los vIA, su clasificación es con base a dos glicoproteínas de superficie, HA y NA; de las cuales se han identificado 18 y 11 subtipos respectivamente (Shi *et al.*, 2014; Russell *et al.*, 2018; Xu y Wojtczak, 2022); de acuerdo a la secuencia de los aminoácidos de HA, se encuentran divididos en dos grupos filogenéticos (Figura 5); situación que también se observa para NA (Figura 5), debido a su diversidad antigénica (Wu *et al.*, 2014; Jang y Seong, 2019). Los IBV en relación a su proteína de superficie HA, se dividen en los linajes similar-Yamagata y similar-Victoria (Jang y Seong, 2019; Wang, Tang, *et al.*, 2022). Los ICV, con base al análisis de HEF se agrupan en los linajes similar a Aichi/1/81, Yamagata/26/81, Mississippi/80, Sao Paulo/82, y Kanagawa/1/76 (Matsuzaki *et al.*, 2003); y los IDV, en los linajes D/OK (D/Oklahoma), D/660 y D/Japón (Odagiri *et al.*, 2018). Derivado de la caracterización de diversas proteínas (PB1, PB2, PA, HA, NA, y NP) se han identificado 5 nuevos virus en otras especies de vertebrados, donde el virus similar a la influenza de la salamandra (*Ambystoma mexicanum*), el virus similar a la influenza del siamés devorador de algas (*Gyrinocheilus aymonieri*) y virus similar a la influenza del salmón keta (*Oncorhynchus keta*) se categorizaron como linajes hermanos del tipo B; y el virus similar a la influenza del sapo de caña (*Rhinella marina*) y el virus similar a la influenza de la rana coro adornada (*Microhyla fissipes*), como linajes hermanos del tipo D (Shi *et al.*, 2018; Parry *et al.*, 2020).

La tercera clasificación aplica solamente para los vIA, debido a que se basa en el patotipo a partir del cual se categorizan en virus de IAAP y de IABP, con base

a la presencia de un sitio multibásico de escisión (Wang *et al.*, 2020; de Bruin *et al.*, 2022); así como, el grado de severidad que la enfermedad provoca en las aves (Wang *et al.*, 2020). En cuanto al primer mecanismo, se debe entender que la HA, se sintetiza en el retículo endoplasmático en forma de un polipéptido precursor denominado HA0, que se glicosila y transporta a la superficie celular (Lycett *et al.*, 2019); etapa en la cual los virus IABP cambian hacia virus IAAP, debido a una serie de mecanismos en el sitio de escisión proteolítica de HA0 (Lee *et al.*, 2021).

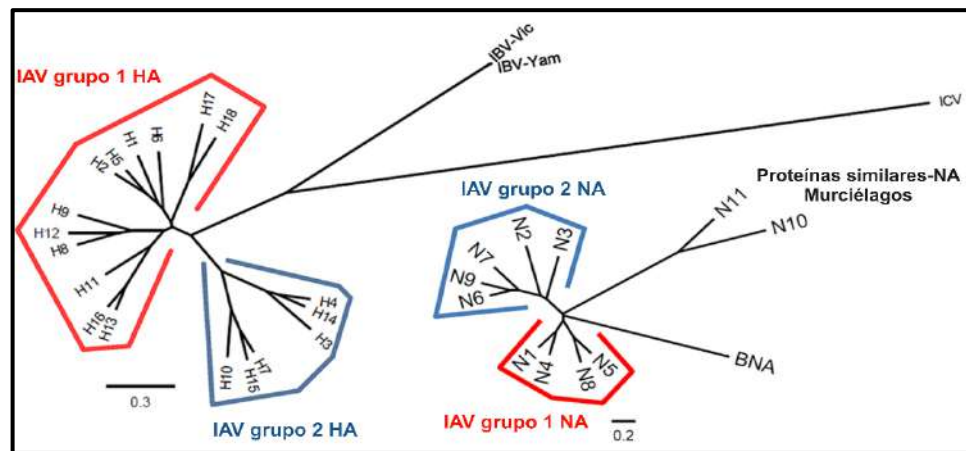


Figura 5. Representación filogenética de HA y NA para los virus de influenza. División de los 18 subtipos de HA de IAV en dos grupos filogenéticos, así como, de los IBV en los linajes similar-Yamagata (IBV-Yam) y similar-Victoria (IBV-Vic); y los ICV se encuentran antigénicamente distantes. Las NA de IAV se dividen en dos grupos filogenéticos, se observa la separación con las proteínas NA de IBV (BNA), y las NA similares identificados en murciélagos (Jang y Seong, 2019).

En el caso de las cepas de IABP, la escisión se realiza extracelularmente mediante tripsina o proteasa similar-tripsina presentes en superficies mucosas, lo que limitará la replicación del virus en células epiteliales del tracto respiratorio y gastrointestinal; dicha ruptura se presentará después de un sitio de escisión monobásico, es decir, que posean uno o dos aminoácidos básicos no consecutivos como arginina (R) o lisina (K) presentes en el extremo carboxilo terminal de HA1 (Figura 6) (Lycett *et al.*, 2019; Swayne *et al.*, 2020; Lee *et al.*, 2021). Determinándose que la secuencia de aminoácidos conservada, para el sitio de escisión de los subtipos IABP H5, es PQRETR/ GLF en donde se realiza la ruptura entre R (arginina) y G (glicina), y la secuencia GLF será una región N-terminal en el

péptido de fusión. En el caso de subtipos H7 cuentan con una secuencia de 11 aminoácidos, PEXPKXR/GLF, donde X hace referencia a la presencia de aminoácidos básicos o neutros en dichas zonas (Perdue, 2008).

En cambio, las cepas de IAAP presentan un procesamiento intracelular realizado por una proteasa similar-furina, ampliando el tropismo tisular del virus (Lycett *et al.*, 2019; Swayne *et al.*, 2020; de Bruin *et al.*, 2022), por lo tanto, estos virus presentan un sitio de escisión multibásico (MBCS), compuesto por múltiples aminoácidos básicos o inserciones de aminoácidos en el extremo carboxilo terminal de HA1 donde actuará la enzima (Figura 6) (Swayne *et al.*, 2020; He *et al.*, 2021; de Bruin *et al.*, 2022); de modo que, se ha establecido que estas proteasas ejercerán su función sobre la secuencia de aminoácidos RXR/KR o en aminoácidos en la posición 6 en relación al extremo C de HA1 (de Bruin *et al.*, 2022). Siendo entonces que el proceso de transición de IABP a IAAP es debido a sustituciones de aminoácidos no básicos por básicos, inserción de múltiples aminoácidos básicos, inserciones cortas de aminoácidos básicos y no básicos, o recombinación no homóloga (NHR) entre RNA de HA y RNA del virus o del hospedante (Lee *et al.*, 2021; de Bruin *et al.*, 2022).

En relación al nivel de severidad clínica que se presenta en las aves, los virus de IABP producen bajas mortalidades (< 5%), disminución en la producción de huevo, así como, infecciones con ausencia de manifestaciones clínicas y replicación limitada de los virus en células del aparato gastrointestinal, como es el caso de las aves silvestres (Caliendo *et al.*, 2020; Swayne *et al.*, 2020; Lee *et al.*, 2021; Shan *et al.*, 2022). En cambio, en los virus IAAP, el rango de mortalidad y morbilidad es elevado, con el desarrollo de una manifestación clínica multisistémica y con la aparición de lesiones en tracto respiratorio, digestivo, urinario, reproductivas, así como, en el sistema nervioso y cardiovascular (Swayne *et al.*, 2020; Lee *et al.*, 2021).

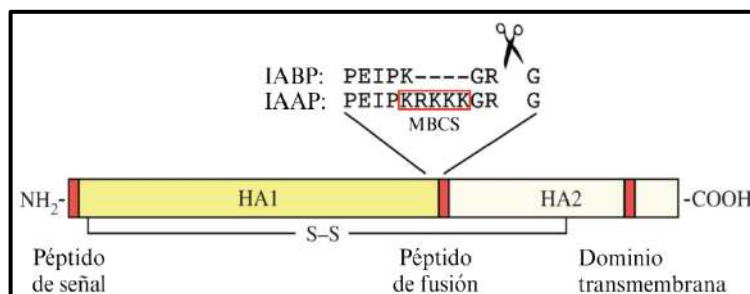


Figura 6. Esquematación del procesamiento de HA0.
Se indican los componentes de los dominios HA1 y HA2, y ejemplificación de una escisión en un virus H5 de alta y baja patogenicidad (Lycett *et al.*, 2019).

2.2.3. Factores de patogenicidad

Las dos glicoproteínas de superficie, HA y NA, son clave para la infectividad, transmisibilidad, antigenicidad, patogenicidad; así como, en la especificidad del hospedante (Sakai *et al.*, 2017; Amaro *et al.*, 2018). Sin embargo, diversos componentes virales también participan conjuntamente para determinar el grado de patogenicidad de estos virus y que mediante algunas variaciones en sus propiedades cambian las características biológicas del virus, como, unión del receptor, capacidad de replicarse, transmisibilidad o modificaciones en proteínas, resultando en una adaptación específica hacia otro hospedante (Zaraket *et al.*, 2013; Mair *et al.*, 2014; Nuñez y Ross, 2019; Suttie *et al.*, 2019).

A continuación, se detallan algunos de los principales mecanismos de adaptación que han desarrollado los vIA; iniciando con el análisis de estas proteínas, está la glicoproteína de superficie HA, la cual cuenta con diversas adaptaciones asociadas a la patogenicidad de las partículas virales; una de ellas es la escisión del precursor HA0 por proteasas del hospedante, que ocasionarán cambios estructurales en la proteína y la formación resultante de los dominios HA1 y HA2 (Suttie *et al.*, 2019; AbuBakar *et al.*, 2023) (Figura 7), donde HA1, dará inicio a la infección mediante el reconocimiento y unión al receptor de la superficie celular; y HA2, permitirá la creación de un poro entre la membrana viral y endosomal, para que el vRNA entre al citoplasma celular (Mair *et al.*, 2014; Suttie *et al.*, 2019; AbuBakar *et al.*, 2023). Dicho corte en el sitio monobásico o multibásico de escisión,

en ciertas secuencias de aminoácidos presentes en HA0, determinará el nivel de patogenicidad del virión (Mair *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2020; de Bruin *et al.*, 2022). Otro factor clave en la adaptación, será en el dominio de unión al receptor (RBD) presente en el dominio globular de HA1, donde se encuentra el bolsillo de unión al receptor (RBP) (Mair *et al.*, 2014; Russell, 2014; Shi *et al.*, 2014; Sempere Borau y Stertz, 2021) conformado por tres dominios secundarios, el bucle-130 (abarca residuos 134-138), la hélice-190 (integra residuos 188-195), y el bucle-220 (conforma por los residuos 221-228) (Mair *et al.*, 2014; Shi *et al.*, 2014; Wu y Wilson, 2020); y por 4 residuos altamente conservados que conforman la base del sitio de unión, los cuales serían Y98 que participa en la formación de puentes de hidrógeno entre los tres dominios con el receptor celular; y W153, H183, y Y195 que contribuyen en la unión del receptor por medio de interacciones de van der Waals (Shi *et al.*, 2014) (Figura 7).

El RBP presenta un papel clave en transmisibilidad y adaptación hacia nuevos hospedantes, debido a que presenta afinidad a los receptores de superficie celular de ácido siálico (SA), específicamente al ácido N-acetilneuramínico (Neu5Ac) que se encuentra enlazado a carbohidratos terminales de glicoproteínas o glicolípidos transmembranales de las células del hospedante (AbuBakar *et al.*, 2023; Mair *et al.*, 2014; Russell, 2014). Existen dos tipos de receptores para los cuales los IAV presentan una alta predilección de unión, el receptor $\alpha 2,3$ -SA-galatosa (SA α -2,3 Gal), denominado receptor aviar; y $\alpha 2,6$ -SA-galatosa (SA α -2,6 Gal) conocido como receptor humano (Mänz *et al.*, 2013; Mair *et al.*, 2014; Baumann *et al.*, 2016; Sakai *et al.*, 2017; Suttie *et al.*, 2019; Abdelwhab y Mettenleiter, 2023); a pesar de la distinción que reciben los receptores, se debe aclarar que ambos se encuentran en diversas especies de mamíferos y aves, en diferentes tejidos, así como en proporciones de los mismos (Abdelwhab y Mettenleiter, 2023).

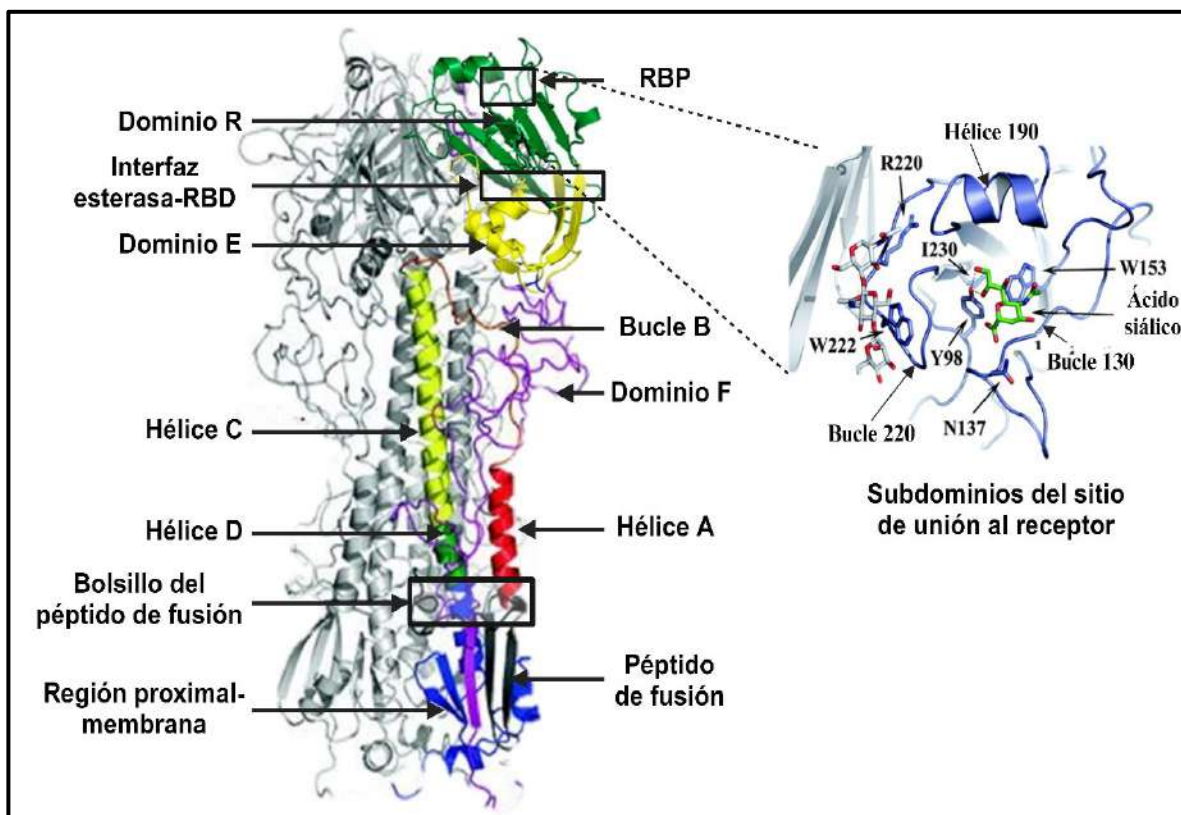


Figura 7. Estructura de la hemaglutinina en los virus de Influenza tipo A. Se representan los componentes de un monómero de HA, integrado por la subunidad HA1 conformada por el dominio R (dominio de unión al receptor, RBD en verde), el dominio E (dominio vestigial esterasa en amarillo), y el dominio F (dominio de fusión en morado); y la subunidad HA2 con diversos elementos estructurales secundarios, como el bucle B (naranja), la hélice C (verde claro), la hélice D (verde oscuro), la hélice A (rojo), la región proximal-membrana (azul) y el péptido de fusión (negro). El segundo diagrama muestra los tres dominios (bucle 220, bucle 130 y hélice 190) que forman el RBP, y residuos conservados en todas las HA (Y98, W153 y H183) que participan en la unión al receptor de ácido siálico mediante puentes de hidrógeno; junto con algunos residuos presentes en cadenas de carbohidratos de monómeros de HA1 aledaños (gris y rojo) que facilitarán la unión al receptor celular. Figura adaptada y modificada de Mair *et al.* (2014); Meisner *et al.* (2008) y Russell (2014, 2021).

Para que se presente una adaptación para la unión hacia un receptor celular diferente, son necesarias sustituciones en aminoácidos del RBD (Mair *et al.*, 2014), específicamente en los residuos de las posiciones 190, 225, 226 y 228 (en los cuales predominan Glu, Gly, Gln y Gly respectivamente en las secuencias de subtipos aviáres) (Wu y Wilson, 2020; Thompson y Paulson, 2021) ya que una modificación en dichas posiciones dará como resultado el cambio en la especificidad de unión de receptores SA α -2,3 Gal hacia SA α -2,6 Gal. Por ejemplo, la sustitución

de glutamina por leucina en la posición 226 (Q226L) resultó en un incremento de la afinidad por receptores SA α -2,6 Gal; la mutación K193T promovió la afinidad por ambos receptores; en cambio, la modificación Q222I en H7N9 aumentó la unión por receptores SA α -2,3 Gal y la disminución para SA α -2,6 Gal, caso contrario, a la mutación G225D que ocasionó un aumento en la unión para SA α -2,6 Gal y la disminución para SA α -2,3 Gal (Sakai *et al.*, 2017; Suttie *et al.*, 2019; AbuBakar *et al.*, 2023). Sin embargo, se ha establecido que un subtipo puede requerir de al menos tres sustituciones simultáneas de aminoácidos para que se dé un cambio completo de especificidad hacia otro receptor (De Vries *et al.*, 2017).

Una tercera adaptación sería el pH de fusión, requerido para generar los cambios conformacionales en el trímero de HA1/HA2, al promover la activación del péptido de fusión de HA2 necesario para regular la fusión de la membrana viral con la del endosoma, y promover la liberación de las vRNP (Nuñez y Ross, 2019; Suttie *et al.*, 2019; AbuBakar *et al.*, 2023). Las mutaciones para que se den cambios en el pH de activación se pueden encontrar en siete regiones estructurales de HA: 1) en el péptido de fusión y su bolsillo; 2) en el empaquetamiento de la hélice A y el bucle B contra la hélice C y D; 3) la interfaz HA2-HA1 entre el subdominio de esterasa RBD, la hélice C y el bucle B; 4) la interfaz HA1-HA1 entre los protómeros de RBD; 5) cercano al RBP; 6) en la interfaz del subdominio esterasa RBD; y 7) en la región proximal a la membrana (Russell, 2014) (Figura 7). Mediante estas modificaciones, se evidenció cambios en la prefusión de la HA del virus, mostrando que un pH de activación bajo, mejorará la replicación y transmisión hacia mamíferos; a diferencia de un pH elevado que ocasiona un aumento en la patogenicidad de los virus aviares (Zaraket *et al.*, 2013; Russell, 2014; Baumann *et al.*, 2016; AbuBakar *et al.*, 2023).

Con base en diversos estudios, las múltiples mutaciones en las proteínas del complejo vRNP, y la proteína de exportación nuclear (NEP); representarán un papel clave en la patogenicidad del virus (Mänz *et al.*, 2013; Suttie *et al.*, 2019). De este grupo de proteínas, la mayoría de las modificaciones se describen en PB2

siendo la mutación E627K la más notable; debido al cambio casi invariable en dichos aminoácidos entre aves y mamíferos, y que es suficiente para la replicación del virus en mamíferos al promover la actividad de la polimerasa a temperaturas más bajas; pasando de actuar de 35° a 40°C como es en pollos a funcionar de 33 a 35°C para mamíferos (Boivin *et al.*, 2010; Mänz *et al.*, 2013; Suttie *et al.*, 2019). En la subunidad PA, donde las mutaciones se agrupan en el extremo amino terminal (Mänz *et al.*, 2013); junto con las presentes en PB1, afectarán la capacidad de replicación viral debido a cambios en la afinidad de los componentes del complejo RdRp (Suttie *et al.*, 2019). En el caso de NP, el mecanismo de sus mutaciones no se tiene del todo claro; pero se plantea que pueden mejorar la interacción entre NP y las isoformas de α -importina, como se evidenció con la mutación N319K. Recientemente se ha descubierto que ciertas mutaciones en la NEP en el extremo N terminal (M16I) o en el extremo C terminal (E75G), fueron suficiente para estimular la síntesis de vRNA de polimerasas aviares en células de mamíferos (Mänz *et al.*, 2013).

Otras proteínas clave en la patogenicidad del virus serían NS1, PB1-F2 o PA-X (Mänz *et al.*, 2013; McKellar *et al.*, 2021). En donde, la NS1 actúa como antagonista de la respuesta inmune de hospedante mediada por interferón tipo I (IFN- α/β) (Mänz *et al.*, 2013; M. Zhao *et al.*, 2017), al inhibir la acción del gen I inducible por ácido retinoico (RIG-I) que se activa al unirse a patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) presentes en el citoplasma como bcRNA para poder interactuar con proteínas de señalización antiviral mitocondrial (MAVS), las cuales forman un centro de señalización (signalosoma) necesario para la señalización de diversos factores de transcripción que van a potenciar producción para IFN tipo I (McKellar *et al.*, 2021; Rashid *et al.*, 2023) debido a la activación del factor nuclear potenciador de la cadena ligera kappa de células B activadas. En el caso de PA-X, actúa inhibiendo la traducción en la célula infectada del hospedante (McKellar *et al.*, 2021), y la proteína PB1-F2 puede intervenir como antagonista en la producción de IFN-tipo I, al asociarse con MAVS, evitando la formación del signalosoma (McKellar

et al., 2021; Rashid *et al.*, 2023); o induciendo la apoptosis en las células, mediante la interacción con ANT3 y VDAC1 presentes en la membrana mitocondrial, finalizando con la liberación del citocromo C al citoplasma celular (Conenello y Palese, 2007).

2.2.4. Mecanismos de evolución

El genoma segmentado junto con la maquinaria de replicación del IAV, confieren la aparición de factores de patogenicidad particulares que conforman su **mecanismo de evolución**. El intercambio de segmentos de vRNA entre dos virus genotípicamente diferentes que pueden coinfectar una sola célula hospedante, puede resultar en la emergencia de nuevas cepas y/o subtipos, así como, su propagación a nuevas poblaciones; siendo este primer mecanismo conocido como reordenamiento (Li *et al.*, 2010; Shao *et al.*, 2017; Piasecka *et al.*, 2020). Debido a que el genoma está integrado por 8 segmentos, se abre la posibilidad que durante una coinfección, presentes en el 26% de las infecciones (Steel y Lowen, 2014), puedan emerger a partir del reordenamiento de las dos cepas parentales un total de 254 genotipos posibles (Chen *et al.*, 2023), con base a un modelo de empaquetamiento aleatorio (Hutchinson *et al.*, 2010; McDonald *et al.*, 2016; White y Lowen, 2018). Sin embargo, dicha teoría fue reformulada para dar origen a un modelo de empaquetamiento específico, basado en el proceso de reordenación que se presenta por la ausencia de una falta de coincidencia a nivel genómico y/o proteico (Hutchinson *et al.*, 2010; White y Lowen, 2018); que involucra, la conjunción de diversas etapas durante el proceso de empaquetamiento del genoma y del ensamblaje del virión. Para comprender el proceso del empaquetamiento específico, se reconocen dos etapas claves, la **compatibilidad entre segmentos de vRNA y entre proteínas virales**; durante la primera etapa se tiene que:

1. Inicia con el proceso de discriminación entre el vRNA, de moléculas de RNA complementarios (cRNA), RNAm virales, y RNAm celulares; que se lleva a cabo

- mediante el reconocimiento selectivo del complejo RdRp de las secuencias conservadas U12 y U13 (McDonald *et al.*, 2016; Shafiuddin y Boon, 2019);
2. Seguido por la compatibilidad entre las señales de empaquetamiento, que actuaran como determinantes primarios para que se establezca una reasignación y una óptima interacción entre los segmentos (Essere *et al.*, 2013; McDonald *et al.*, 2016; White y Lowen, 2018; Du *et al.*, 2023); junto con los RNA de interferencia defectuosos (DI-RNA), que son pequeños fragmentos de RNA generados de deleciones internas del vRNA, al participar en la identificación de las señales de empaquetamiento del genoma viral (Shafiuddin y Boon, 2019).
 3. Y finalmente, la discriminación entre los mismos 8 segmentos de vRNA para asegurar un empaquetamiento completo segmento genómicos diferentes; por medio de la presencia de fuerzas de repulsión que son más fuerte entre vRNP idénticas que entre vRNP distintos (Gerber *et al.*, 2014); así como, contar con una mayor afinidad entre segmentos congénitos que entre vRNA no congénito (McDonald *et al.*, 2016).

Siendo entonces que se han definido diferentes escenarios de como las estructuras secundarias y/o terciarias derivadas de las regiones desnudas del complejo NP-vRNA, conformarán múltiples interacciones entre las señales de empaquetamiento y regiones codificantes; siendo entonces que dichas regiones serán las encargadas de formar las interacciones intersegmentos y promover una reasignación genética (Gerber *et al.*, 2014; Shafiuddin y Boon, 2019; Noda, 2021). En un primer escenario, la existencia de segmentos que interactúan a través de diferentes secuencias (incompatibles) como resultado de una cosegregación genética donde dos cepas parentales que contaban con la misma red de interacción entre vRNA y organización (Figura 8A). Un segundo caso, no se mantiene la conformación de la cepa parental receptora, debido a que sus interacciones impedirán la incorporación de segmentos en el conjunto genómico (Figura 8B); o, situación donde la red de interacción vRNA-vRNA y la organización interna no se

conserva entre las cepas parentales, generando una progenie con un conjunto incompleto de segmentos (Figura 8C) (Gerber *et al.*, 2014; White y Lowen, 2018).

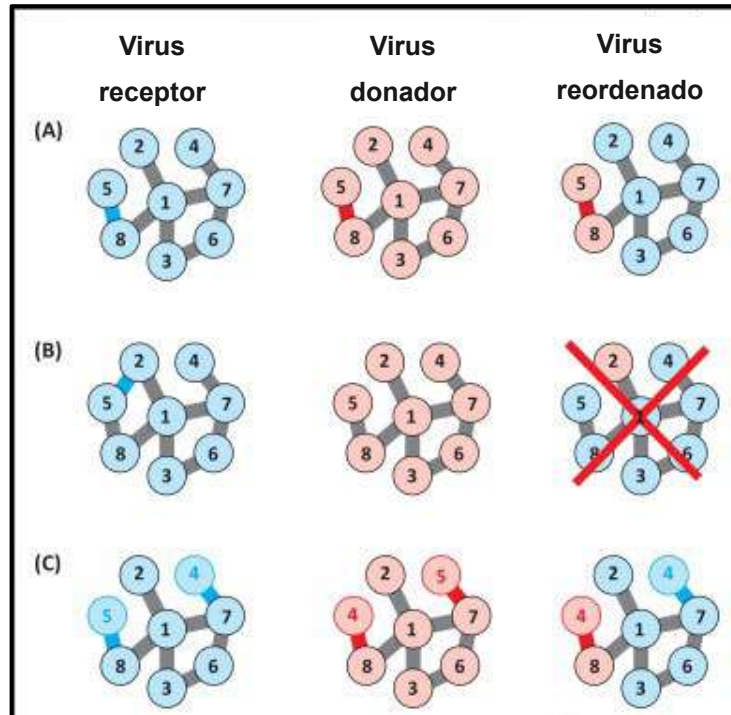


Figura 8. Interacciones inter-vRNA en un reordenamiento genético.

(A) Cosegregación de dos segmentos interactuando por medio de diferentes secuencias, cuando las cepas parentales poseen la misma organización interna. **(B)** Una interacción presente en virus receptor, pero no en el donador, participa previniendo la incorporación de segmentos durante el proceso de ensamblaje. **(C)** cosegregación de dos segmentos desde un virus donador hacia un virus con diferentes interacciones inter-VRNA y organización genómica de las vRNP terminará con progenie sin un panel completo genómico (Gerber *et al.*, 2014).

Durante una etapa de reordenamiento, pueden formarse progenies que no lleguen a verse afectadas por la falta de coincidencia de señales de empaquetamiento, sin embargo, puede presentarse la codificación de proteínas incompatibles (Moreira *et al.*, 2016; White y Lowen, 2018), por lo deberá existir una compatibilidad entre RNA y proteínas. Esta condición se visualiza cuando llega a existir una discrepancia entre PA, PB1, PB2 y NP; ya que al presentarse un desajuste entre los componentes del complejo vRNP se verá alterada la transcripción, la replicación y el reordenamiento (White y Lowen, 2018), ya que el complejo RdRp participa en la identificación de UTR (McDonald *et al.*, 2016;

Shafiuddin y Boon, 2019), en cambio, la NP por medio de una serie de aminoácidos conservados denominados código de empaquetamiento de NP junto con las señales de empaquetamiento participará en el desarrollo de interacciones óptimas entre los 8 segmentos (Moreira *et al.*, 2016). Una situación similar se aprecia entre HA y NA, donde al presentarse un desequilibrio en estas proteínas de superficie se estará comprometiendo la aptitud infectiva del virus (Essere *et al.*, 2013; White y Lowen, 2018); y finalmente se tiene el caso de NS con el complejo vRNP, ya que en caso de no coincidir las proteínas implicadas se verá afectado el mecanismo de exportación del vRNP del núcleo (White y Lowen, 2018).

Si bien, cuando se lleva a cabo una coinfección, la diversidad genética de la progenie se encontrará limitada por la falta coincidencia o incompatibilidad entre los componentes heterólogos de las cepas parentales; ocasionando que este desajuste actúe como una barrera limitante en la formación de nuevas constelaciones genéticas, sin embargo, esta incompatibilidad se podría compensar por un mecanismo viral donde se ve implicado el complejo RdRp. Debido a que dicho complejo presenta la particularidad de carecer de una actividad de corrección y reparación durante la síntesis de la cadena de RNA (Mänz *et al.*, 2013; Pauly *et al.*, 2017; Suttie *et al.*, 2019), esto provocará la generación de 10^{-3} a 10^{-6} mutaciones por nucleótido por ciclo de infección celular (Pauly *et al.*, 2017; Shao *et al.*, 2017) y en la aparición del segundo mecanismo evolutivo la mutación. Finalmente, como último mecanismo, se encuentra la recombinación, que puede darse de forma: no homóloga, en el intercambio se da entre dos fragmentos de RNA diferentes; u homóloga, cuando presenta un cambio durante la síntesis del RNA (Boni *et al.*, 2008; Pérez-Losada *et al.*, 2015; Shao *et al.*, 2017); siendo este mecanismo una integración conjunta de los mecanismos evolutivos descritos anteriormente.

Al considerar que la variación de un aminoácido en un sitio específico (Xiong *et al.*, 2013; Popova *et al.*, 2019); así como, el empaquetamiento múltiple entre

cepas que pueden coinfectar la misma célula (Cobbin *et al.*, 2014), serán puntos clave para generar cambios en la transmisibilidad del virus hacia otras especies; reflejado en cambios de afinidad de los receptores celulares, el desarrollo de un cruzamiento interespecie y la resultante afectación de otras especies (Xiong *et al.*, 2013; Suttie *et al.*, 2019). Tal como se observó en las infecciones por la IAAP H5N1 en mamíferos donde el virus presentaba ciertas variaciones de aminoácidos en su proteína HA, lo que generó la preferencia de unión a SA α -2,6, más no una eficiencia de unión al mismo; de igual manera, se encontró que la modificación E627K en PB2 son necesarias para mejorar la replicación viral en mamíferos, aunque la mayoría de las muestras retenían similitud de origen aviar al conservar el aminoácido, ácido glutámico en dicha posición (Alkie *et al.*, 2023).

2.3. Epidemiología

Se conocen más de 14,000 patógenos en humanos, de los cuales el 65% son zoonóticos, y solo el 5% son de origen viral, que en su mayoría se conforman por virus de RNA, donde se encuentra el virus de la influenza aviar (Causey y Edwards, 2008). Dicho agente, no solo ha provocado casos en humanos, sino también en diversas poblaciones de fauna silvestre (EFSA *et al.*, 2023; OPS y OMS, 2023); convirtiéndose en una enfermedad emergente en aquellas poblaciones sin exposición previa a la enfermedad que al estar sometidas a diversos factores estresantes, como destrucción de hábitat y cambio climático, se convierten en poblaciones susceptibles a diversas enfermedades, generando la aparición de brotes que causan disminuciones rápidas y catastróficas en las poblaciones de fauna silvestre (Russell *et al.*, 2020).

Son estas poblaciones de donde los vIA presentan su ascendencia específicamente a partir de las aves silvestres donde la prevalencia puede ser desde un 20 al 30% (Steel y Lowen, 2014), o inclusive partir de un 2.5% hasta un 56.8% (Chen *et al.*, 2019); donde las especies acuáticas, actúan como los principales reservorios naturales (Stallknecht y Brown, 2017; Russell *et al.*, 2018;

Lee *et al.*, 2021), aunque también las aves terrestres pueden llegar a participar como reservorios importantes (Cerdeña-Armijo *et al.*, 2020). Esto debido a que el virus llega a infectar naturalmente células del tracto intestinal de las aves silvestres, provocándoles infecciones asintomáticas (Causey y Edwards, 2008; Reperant *et al.*, 2012; Daoust *et al.*, 2013; Han *et al.*, 2019; Caliendo *et al.*, 2020). Por su parte, el papel circunstancial de las aves silvestres, como agente activo en la introducción, mantenimiento y transmisión del virus a través de largas distancias dependerá en gran medida también de factores ecológicos, como distribución y densidad de las poblaciones, para que se vuelva enzoótico en poblaciones de aves residentes (Causey y Edwards, 2008; Abdelwhab y Mettenleiter, 2023;).

2.3.1. Hospedante

La diversidad de los IAV, deriva de dos propiedades claves; la conformación y segmentación de su genoma, como la habilidad de generar reordenamientos genómico que le confieren la capacidad de circular y mantenerse en sus reservorios naturales, así como infectar una diversidad de hospedantes (Zaraket *et al.*, 2013; Hill *et al.*, 2022) (Figura 9). Las aves silvestres conforman el reservorio natural para el vIA; sin embargo, su presencia entre las aves silvestres es variable, debido a que se encuentra influenciado por la especie como por la ecogeografía (Gilbert *et al.*, 2008). Siendo entonces que el virus, se ha registrado en al menos 100 especies presentes en 12 de 50 órdenes de aves (Stallknecht y Brown, 2017; Farahat *et al.*, 2023). Siendo dos órdenes altamente divergentes (Hill *et al.*, 2022) como es, el orden de Anseriformes (patos, gansos y cisnes) y el de Charadriiformes (gaviotas, estérnidos y playeros), donde se encuentran la mayoría de las especies que actuarán como reservorios de los virus de IABP, específicamente de 16 de 18 subtipos de HA, y 9 de 11 subtipos de NA (Bodewes y Kuiken, 2018; Verhagen *et al.*, 2021; de Bruin *et al.*, 2022; Hill *et al.*, 2022; Prosser *et al.*, 2022; Abdelwhab y Mettenleiter, 2023). Los virus IABP se presentan mayormente en especies de la subfamilia *Anatinae*, específicamente en el ánade real (*Anas platyrhynchos*), reservorio del subtipo H1 al H12; en cambio, en el orden de Charadriiformes se

presentan con mayor regularidad en las familias *Scolopacidae*, *Charadriidae*, *Alcidae*, y *Laridae* (Vandegrift *et al.*, 2010; Bodewes y Kuiken, 2018; Castro-Sanguinetti *et al.*, 2023), siendo las gaviotas (familia *Laridae*) reservorios para los subtipos H13 y H16 (Bodewes y Kuiken, 2018; Venkatesh *et al.*, 2018; Rasmussen *et al.*, 2023).

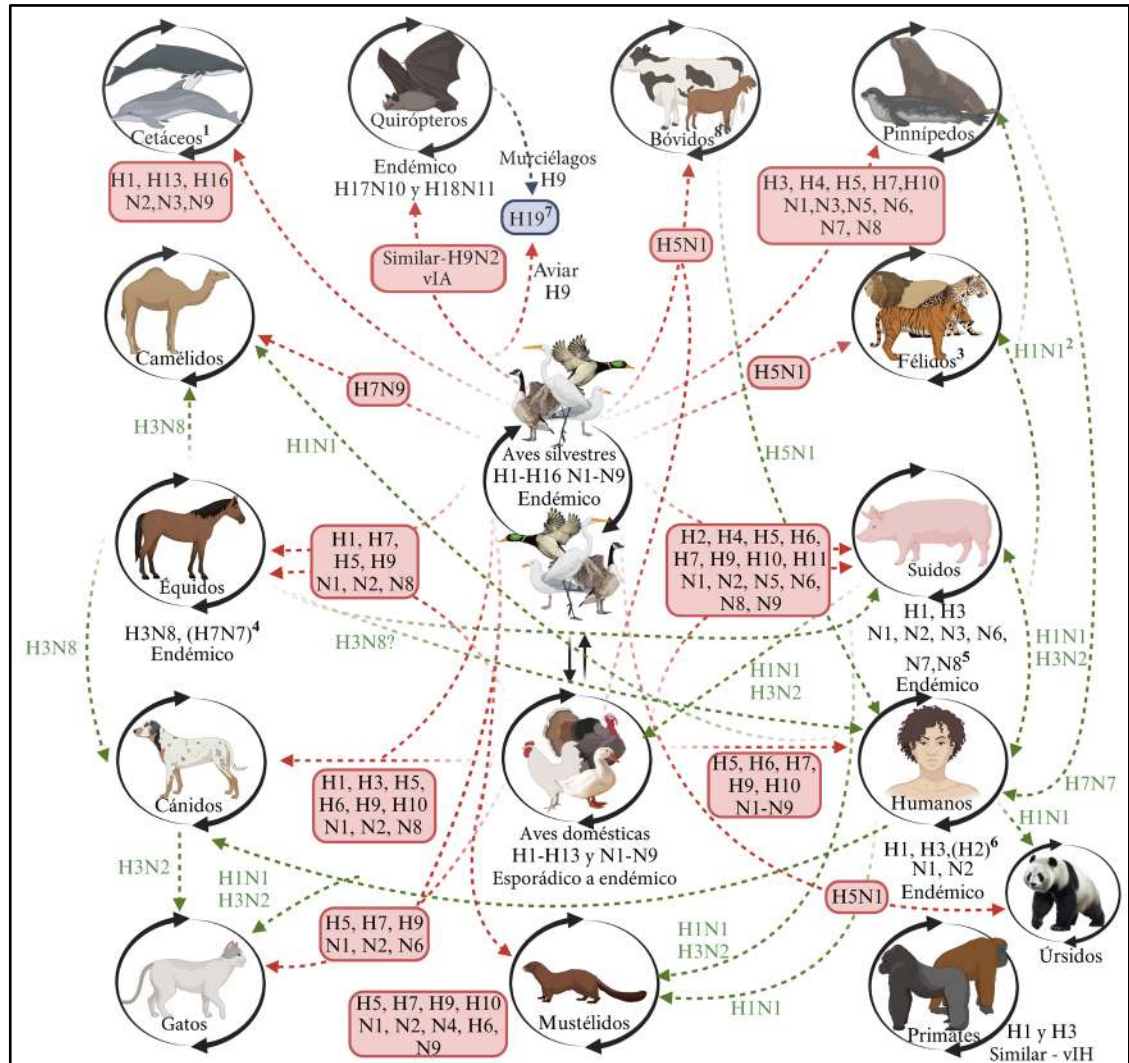


Figura 9. Subtipos de HA y NA identificados en diferentes hospedantes. Las fechas rojas indican transmisión esporádica del IAV de origen aviar, y las verdes una transmisión directa del IAV por otras especies. 1. En delfines se ha descrito solo el subtipo H16N3. 2. El virus H1N1 se reportó en felinos y focas en cautiverio. 3. Notificación del virus IAAP H5N1 en felinos en cautiverio. 4. El subtipo H7N7 no se reporta desde 1970. 5. H1N1, H1N2 y H3N2 son endémicos en cerdos. 6. El subtipo H2 no se reporta desde 1957. 7. El subtipo H19 descende del linaje H9 aviar y H9 de quirópteros. 8. Notificación del subtipo H5N1 en bovinos y caprinos de EE.UU. desde principios de 2024 (Aranda *et al.*, 2025).

Los IAV que afectan a los mamíferos y aves domésticas, surgieron a partir de reservorios naturales; exceptuando a los subtipos H17N10 y H18N11 notificados solamente en murciélagos (Wu *et al.*, 2014; Brunotte *et al.*, 2016; Stallknecht y Brown, 2017; Lee *et al.*, 2021). El subtipo H17N10 se aisló en el transcurso del 2009 y 2010 en el murciélago de hombros amarillos (*Sturnira lilium*) en Guatemala; en cambio, el virus H18N11 fue identificado por primera vez durante el 2010 en el murciélago frugívoro de cara plana (*Artibeus planirostris*) en Perú, y años más tarde, en 2015 en murciélagos frugívoros (*Artibeus obscurus*) de Bolivia (Ciminski *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2021; Abdelwhab y Mettenleiter, 2023). Durante el 2017 se determinó a partir de murciélagos frugívoros egipcios (*Rousettus aegyptiacus*) que también son portadores de un virus IA similar H9N2 (Ciminski *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2021). Sin embargo, en Kazajstán en 2008 a partir de muestras de un porrón común (*Aythya ferina*) se planteó la evidencia genómica de un nuevo subtipo candidato (Fereidouni *et al.*, 2023); fue a partir de análisis genómicos que se denominó a dicho subtipo como H19, el cual se encuentra íntimamente relacionado con el subtipo H9 del virus de influenza presente en murciélagos, el cual tiene su origen del subtipo H9 de influenza circundante en poblaciones de aves silvestres (Karamendin *et al.*, 2024).

De la amplia variedad de subtipos HA y NA, solamente se han identificado 116 de las 144 combinaciones posibles que pueden presentarse entre estas dos glicoproteínas de superficie (Taubenberger y Kash, 2010; Lu *et al.*, 2014^b); que con base a su alta de recombinación, dan pauta a la aparición de los diversos subtipos, dicho mecanismo ha sido responsable de proporcionar una vía evolutiva efectiva para la amplia diversidad genética con la cuenta el virus (Lu *et al.*, 2014^b; Piasecka *et al.*, 2020). Esto se esclarece mediante el análisis evolutivo de los subtipos aislados, por ejemplo, el aislamiento del subtipo H11N2 en pingüinos de la Antártida, dio pautas para investigar el ancestro de un virus que se pensaba ausente en dichas

zonas geográficas; a partir de análisis genómicos y filogenéticos de la NA, se determinó que tenía una relación distante con linajes de influenza aviar y humana; con respecto a la PB1 y PA presentaban una mayor vinculación con un linaje de virus H3N8 de equinos que surgió en 1963; concluyendo que cada uno de los segmentos presentaba una divergencia de hasta 80 años con los virus, a partir de los cuales tenían una mayor asociación (Hurt *et al.*, 2014).

Las aves silvestres aunque son reservorios naturales, la prevalencia de una infección por un virus de IABP es baja, de un 0.7 al 2.4%, donde las aves jóvenes son más susceptibles en desarrollarlas (De Marco *et al.*, 2016; Stallknecht y Brown, 2017). Esta particularidad, se debe al mecanismo de respuesta de sus sistema inmunológico; en especial a un aumento en la expresión de receptores de reconocimiento de patógenos (PRR), siendo el receptor RIG-I, junto con el factor de transcripción, denominado el transductor de señal y activador de la transcripción 3 (STAT-3), los componentes claves en su respuesta (Kuchipudi *et al.*, 2014; Pantin-Jackwood, 2017; Evseev y Magor, 2019). Sin embargo, la eficiencia recae en RIG-I, ya que reconocerá vRNA presentes en el citoplasma para desencadenar una respuesta temprana de IFN- tipo I en las células para producir IFN- β (Evseev y Magor, 2019; Koutsakos *et al.*, 2019), caso contrario que ocurre con las aves domésticas que carecen de dicho receptor produciendo niveles bajos de IFN- β mediante la activación del receptor de la proteína 5 asociada a la diferenciación del melanoma (MDA-5), así como un efecto agonista en la producción exacerbada de citocinas proinflamatorias (Pantin-Jackwood, 2017; Evseev y Magor, 2019); situación ausente en las aves silvestres, que al tener un aumento en la expresión de STAT-3, que tendrá un papel antiinflamatorio al actuar como antagonista en la producción de citocinas inflamatorias, y en aumentar la señalización de IFN- tipo I (Kuchipudi *et al.*, 2014); dichas características representan la diferencia clave en la respuesta de estas aves ya que en lugar de actuar como reservorios su sistema inmunológico actuará como limitador de la replicación viral (Evseev y Magor, 2019; Song *et al.*, 2019); y en la producción de anticuerpos contra NP, proteína

conservada que brindará protección cruzada para diversos tipos de vIA, inclusive para subtipos de HA antigénicamente distintos (Hill *et al.*, 2016).

2.3.2. Distribución

Las aves silvestres desempeñan particularmente un papel clave en la ecología de la enfermedad; ya que al existir aproximadamente 10,000 especies de aves (Causey y Edwards, 2008; AbuBakar *et al.*, 2023), han brindado al vIA una amplia variedad de hospedantes naturales (Causey y Edwards, 2008), siendo las aves migratorias las que cumplen un rol importante en la persistencia, amplificación y propagación del agente (Prosser *et al.*, 2022) ocasionado que se presente en una diversidad de hábitats terrestres y acuáticos; siendo reportado en África, Asia, Australia, Europa y América (Swayne *et al.*, 2020), considerándose a la Antártida como el único continente libre, sin embargo, este panorama cambio durante la década de los 80's (Morgan y Westbury, 1981, 1988) cuando se determinó la presencia serológica de anticuerpos contra el virus en pingüinos Adelia (*Pygoscelis adeliae*), pingüinos barbijo (*Pygoscelis antarcticus*), pingüinos gentoo (*Pygoscelis papua*), escúas polares del sur (*Catharacta maccormicki*) y escúas marrones (*Catharacta antarctica lonnbergi*). Pero fue hasta el 2014 cuando el virus H11N2 fue identificado en pingüinos Adelia (*Pygoscelis adeliae*) (Hurt *et al.*, 2014), y a partir de ese momento se han identificado otros subtipos como H5N5 y H6N8 (Bennison *et al.*, 2023).

Los IAV se diseminan geográficamente a diversas regiones (Mine *et al.*, 2019) debido a los patrones de movilidad estacional de las aves migratorias (Somveille *et al.*, 2013) que se desplazan largas distancias conectando zonas de reproducción e invernada a través de corredores denominados rutas migratorias (De Marco *et al.*, 2016) (Figura 10). Estas rutas migratorias, actúan como puntos de diseminación e intercambio de cepas (Mine *et al.*, 2019; Blagodatski *et al.*, 2021); así como, en el movimiento intercontinental a partir de sitios convergencia denominados áreas de superposición de rutas migratorias (Mine *et al.*, 2019) que al

sumarse con las relaciones entre los patrones migratorios estacionales, las interacciones entre diferentes poblaciones, y las características de inmunidad y susceptibilidad del hospedante, conformarán el complejo de transmisión y persistencia del vIA en el ambiente (Stallknecht y Brown, 2017; Prosser *et al.*, 2022).

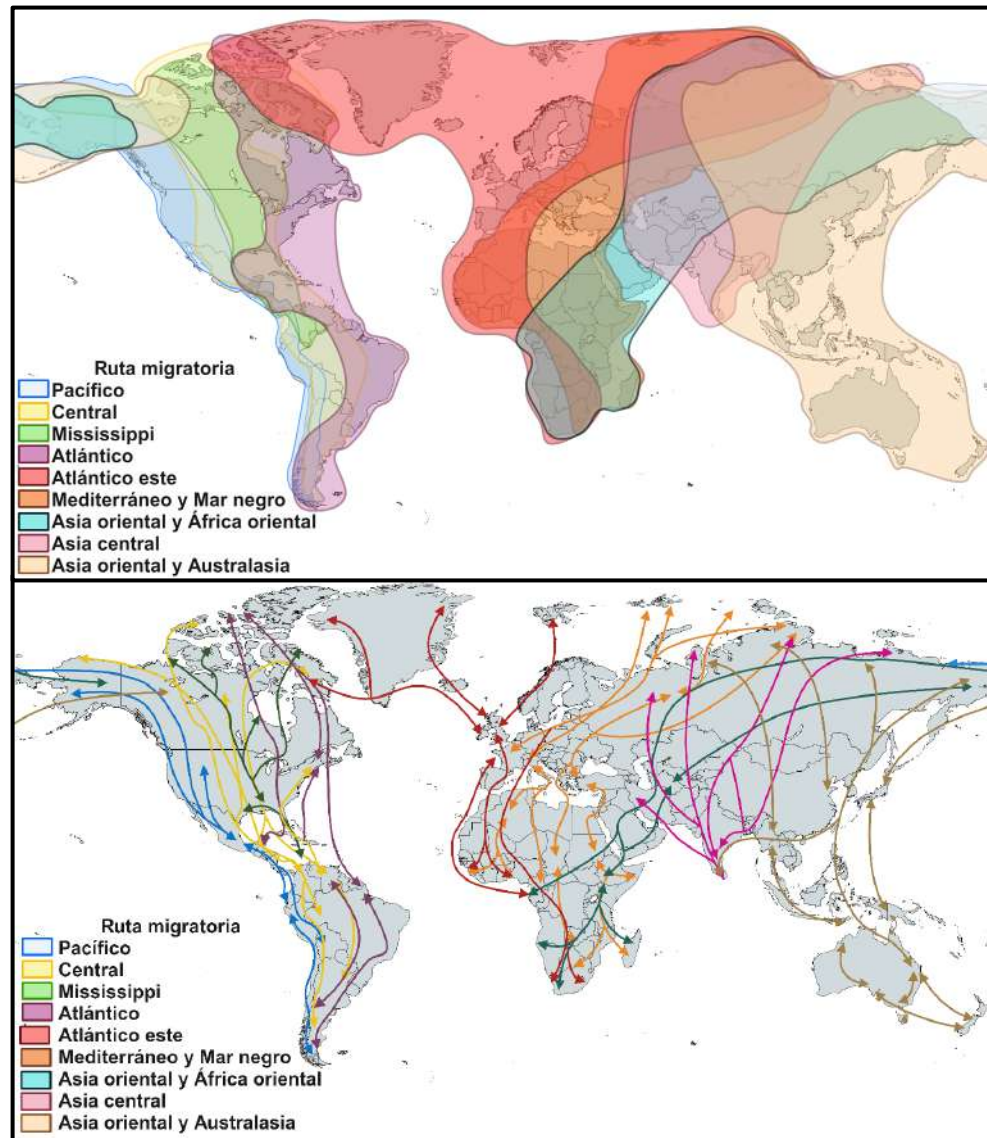


Figura 10. Principales rutas y patrones migratorios de las aves silvestres. En el mapa superior se ejemplifican los corredores migratorios de las aves silvestres y en el inferior se aprecian los principales patrones migratorios continentales para cada ruta⁵.

⁵ Se consultaron las siguientes fuentes para elaborar la Figura 10, (Birdlife International, 2023; Aranda *et al.*, 2025).

Si bien las aves migratorias en conjunto con sus patrones estacionales, han sido catalogados como los factores principales en la dispersión y prevalencia de los vIA en diversas regiones del mundo (Bodewes y Kuiken, 2018); donde las migraciones durante otoño representan un papel clave en la transmisión de los virus más que la migración primaveral, debido a que en la migración otoñal no solo agrupa a los individuos adultos, sino también la nueva generación de individuos nacidos durante el verano y que llegan a ser inmunológicamente susceptibles a la infección por IAV (Stallknecht y Brown, 2017; Blagodatski *et al.*, 2021). No obstante, este paradigma presenta diversas modificaciones, ya que si bien las aves silvestres migratorias contribuyen en la conexión global de los brotes locales de influenza aviar en aves domésticas (Bahl *et al.*, 2016); estas participarán más activamente en la expansión geográfica, al contrario de las aves domésticas que actuarán como responsables de ampliar el rango local o regional de los brotes (N. J. Hill *et al.*, 2022). Sin embargo, será la convergencia activa entre el comercio de aves domésticas y el movimiento de aves silvestres a través de rutas migratorias, lo que impulsará la propagación del vIA (Kilpatrick *et al.*, 2006).

2.3.3. Influenza aviar en aves silvestres de México

Anteriormente, se describieron los principales subtipos de influenza aviar en aves domésticas, como el H5N2 endémico en dicha población desde 1993 (Xu *et al.*, 2022), el H7N3 que sigue ocasionando brotes ocasionales desde su surgimiento en 2012 (Swayne *et al.*, 2020; Navarro-López *et al.*, 2023^c), y recientemente el virus de IAAP H5N1 clado 2.3.4.4b, donde el caso en una granja de gallinas ponedoras en Sonora a finales de octubre de 2023 y en un ánade rabudo (*Anas acuta*) a principios de noviembre de 2023, fueron los último reportes registrados desde marzo de 2023 (WOAH y WAHIS, 2023; Alcazar *et al.*, 2024). Por otra parte, los virus de IABP se han identificado en diversas especies de reportados aves silvestres endémicas y migratorias (Cuadro 1) (BV-BRC, 2023; NCBI, 2023; SENASICA, 2023); estableciendo que la prevalencia del vIA en poblaciones de aves acuáticas y

terrestres presentes en las áreas de superposición de rutas migratorias en el territorio nacional sea de un 39% (Cerdeña-Armijo *et al.*, 2020).

Cuadro 1. Subtipos de Influenza aviar aislados en México.

	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12	H13	H14	H15	H16
N1	**				**	**	**		**							
N2	**	**	**		**				**	**	**					
N3	**		**		**		****				**					
N4	**				**	**		**		**						
N5	**		**				**			**		**				
N6			**	**												
N7	**		**		**					**						
N8		**			**	**										
N9		**			**		**		**	**	**					

Subtipos aislados en Anseriformes (azul), Charadriiformes (verde), y en más de un orden (gris); representado por (**) aislados en Anseriformes y Charadriiformes, y (****) en Anseriformes, Charadriiformes, Psittaciformes y Galliformes⁶.

2.4. Influenza aviar de alta patogenicidad

La formación de los virus de IAAP, tuvieron su origen por un fenómeno epidemiológico denominado **spill-over**; que consistió en una transición esporádica y adaptativa de virus de IABP de las aves silvestres hacia sus contrapartes domésticas (gansos y patos), solamente los subtipos H5 y H7, adquirieron inserciones en el MBCS ocasionando la aparición de virus patógenos en poblaciones de aves domésticas (Monne *et al.*, 2014; Sonnberg *et al.*, 2013; Hill *et al.*, 2022;). El registro de infecciones por IAAP, se sospecha que datan de 1878, cuando se realizó la primera descripción de la enfermedad (Perroncito, 1878); no obstante, se ha determinado que los brotes desde 1880 a 1959 fueron ocasionados por subtipos IAAP H7N1 y H7N7, con base a muestras provenientes de epidemias ocurridas entre 1924 y 1930 (Kaleta y Rülke, 2008; Swayne *et al.*, 2020). La situación en el continente americano de estos virus datan de los años veinte, a partir, de las epidemias registradas en EE.UU. durante 1924 y 1929 (Swayne, 2008); sin

⁶ Se consultaron las siguientes fuentes para elaborar el Cuadro 1, (BV-BRC, 2023; NCBI, 2023; SENASICA, 2023).

embargo, el escenario cambio durante 1959, con el surgimiento del subtipo IAAP H5 en Escocia (H5N1), a partir de entonces se encuentran circulando en diversas regiones los virus IAAP H5 y H7, que presentan diversos reordenamientos de NA (N1-N9) (Brown *et al.*, 2017; Swayne *et al.*, 2020; Shi y Gao, 2021). La mayoría de los brotes desde 1959 fueron casos aislados, limitados y erradicados; con la excepción del virus H7N3 mexicano, H7N9 chino (Lee *et al.*, 2021), y las cepas actuales del subtipo H5Nx provenientes de un linaje ancestral que surgió en la década de 1990 en China; ya que continúan causando brotes en aves domésticas (Sims y Brown, 2017; Shi y Gao, 2021; Lee *et al.*, 2021; Marandino *et al.*, 2023).

Anteriormente se consideraba que las aves domésticas eran las únicas portadoras de subtipos de IAAP (Alexander, 2000; Hill *et al.*, 2022), sin embargo, a causa de un fenómeno de **spill-back**, basado en la transmisión de subtipos de IAAP presentes en poblaciones domésticas hacia sus contrapartes silvestres (gansos, cisnes o patos) las poblaciones silvestres se han vuelto portados de ciertos subtipos de IAAP (Nabil *et al.*, 2020; Hill *et al.*, 2022;). Si bien las aves silvestres están adaptadas a subtipos de IABP, no todas lo estarán a los de alta patogenicidad, ocasionando casos de mortalidad en algunas poblaciones (Ayala *et al.*, 2020); tal como lo ocurrido en 1961 en las costas de la provincia del Cabo entre el puerto Elizabeth y la bahía del Lamberts, donde se registró el primer caso de IAAP en una población de charranes comunes (*Sterna hirundo*) causado por el virus A/tern/South Africa/61 (H5N3) (Rowan, 1962; Becker, 1966;). Siendo posteriormente virus descendientes del linaje A/goose/Guangdong/1/1996 (GsGd), los promotores del resurgimiento de brotes poblaciones de aves silvestres (Harvey *et al.*, 2023).

2.4.1. Evolución del linaje Gs/Gd

El virus A/goose/Guangdong/1/1996 (GsGd) (H5N1), se aisló en gansos domésticos en la ciudad de Shanshui de la provincia de Guangdong, China, en 1996 (Zhao *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2017; Harvey *et al.*, 2023; Marandino *et al.*, 2023), inicialmente el linaje Gs/Gd se caracterizó por mantenerse y evolucionar en

poblaciones de aves domésticas de Asia, específicamente en China, sin embargo, la propagación continua hacia aves silvestres promovió la persistencia de estas variantes en dichas poblaciones (Youk *et al.*, 2023); ocasionando que el linaje cursará por mecanismos de evolución, dando origen a 10 clados (0 a 9) filogenéticamente distintos (Lee *et al.*, 2017; Antigua *et al.*, 2019; Marandino *et al.*, 2023; Xie *et al.*, 2023) (Figura 11), derivados de reordenamientos de genes de NA y proteínas internas entre virus descendientes con virus de IABP, siendo el gen de HA, un segmento altamente conservado en todos los clados (Sims y Brown, 2017; Shi y Gao, 2021; Marandino *et al.*, 2023; Xie *et al.*, 2023). Así mismo, los clados que aún continúan circulando son 1 (Malasia, Camboya y Vietnam), 2.1.3 (Indonesia), 2.2.1 (Egipto e Israel), 2.2.2 (India, Bangladesh y Bután), 2.3.2 (China, Hong Kong, Myanmar y Vietnam), 2.3.2.1 (China, Hong Kong, República de Corea, Vietnam, Laos, Bangladesh, Bután, India, Indonesia, Nepal, Myanmar, Irán, Mongolia, Rusia, Bulgaria y Rumania) y 7 (China y Vietnam) (Tosh *et al.*, 2014; Sims y Brown, 2017).

Los virus de este linaje, han sido causantes de múltiples eventos epizooticos, siendo los descendientes del clado 2 los que causantes de dichos eventos debido a que son los que más se han expandido a partir de su surgimiento en 2001 a 2006, llegando a desencadenar dos grandes diseminaciones intercontinentales de IABP a partir de aves silvestres (Antigua *et al.*, 2019). El primer evento inicio de 2003 a 2005 con diversos brotes en Asia por H5N1 que resulto en la muerte de 150 millones de aves (Tosh *et al.*, 2014), no fue hasta mayo de 2005, cuando un virus H5N1 del clado 2.2 provocará el segundo brote sin precedentes en aves silvestres, debido ocasionó la muerte de más de 6,000 aves acuáticas en el lago Qinghai; a partir de entonces comenzó la expansión geográfica del linaje, llegando a Mongolia y Rusia en el verano de 2005, a Europa oriental a finales de 2005, a Egipto en 2006 (Saito *et al.*, 2015; Antigua *et al.*, 2019; Ramey *et al.*, 2022; Shi *et al.*, 2023; Xie *et al.*, 2023), y a África occidental, Europa occidental, Medio Oriente, Japón y la República de Corea del 2009 al 2010 (Sonnberg *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2021; Ramey *et al.*, 2022).

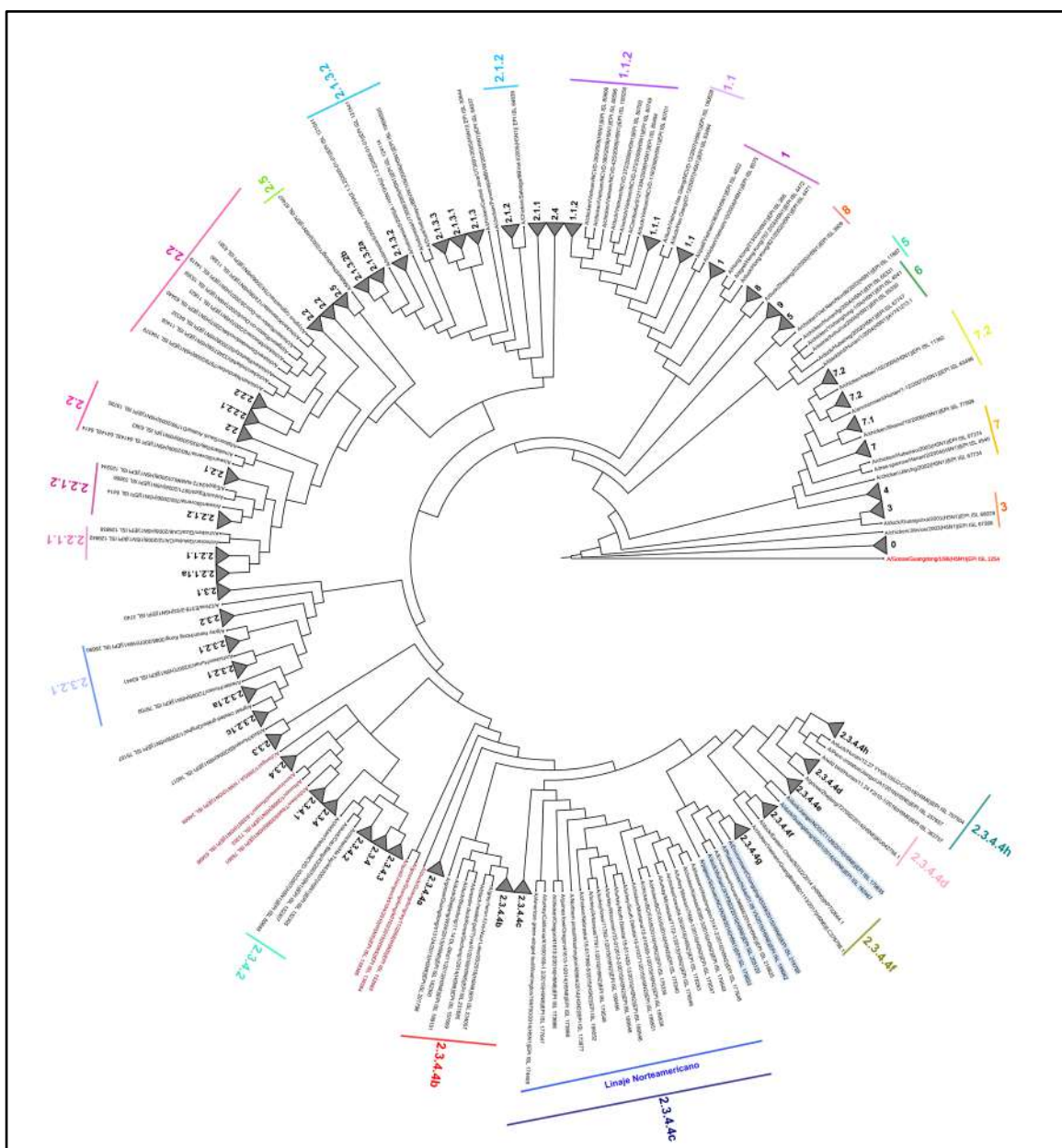


Figura 11. Evolución genética del gen HA de los virus de IAAP H5NX del linaje Gs/Gd. Visualizan un árbol filogenético de los clados y subclados descendientes del linaje Gs/Gd, siendo los virus del clado 2.3.4.4c y 2.3.4.4b los únicos que se han identificado en América (Aranda *et al.*, 2025).

El evento epidemiológico, se confinó a Asia para el año de 2012 (Sonnberg *et al.*, 2013; Sims y Brown, 2017;), sin embargo, en 2008 surgió el clado 2.3.4 que en el período del 2009 a 2013, tuvo su expansión junto con una etapa de disminución de brotes (Tosh *et al.*, 2014; Antigua *et al.*, 2019; Yamaji *et al.*, 2020;

Shi y Gao, 2021), fue a finales del 2013 que comenzó un segundo evento epidemiológico, debido a la aparición del clado 2.3.4.4 en Asia, ocasionado una nueva oleada de casos el periodo 2014 al 2015 (Saito *et al.*, 2015; Ramey *et al.*, 2022; Shi *et al.*, 2023; Xie *et al.*, 2023), pero en esta ocasión causados por un grupo de virus denominados colectivamente H5Nx (Marandino *et al.*, 2023); integrado por el subtipo H5N8, H5N2, H5N3, H5N5 y H5N6 (Antigua *et al.*, 2019; Lee *et al.*, 2017; Shi *et al.*, 2023; Shi y Gao, 2021; Sims y Brown, 2017); siendo el H5N8, el más representativo, debido a que mejoro su capacidad de infectar a las aves silvestres y en ocasionar la primera diseminación intracontinental durante el brote de 2014 (Claes *et al.*, 2016; Lee *et al.*, 2017; Ramey *et al.*, 2022; Shi *et al.*, 2023; Xie *et al.*, 2023; Youk *et al.*, 2023).

Los virus del clado 2.3.4.4 han evolucionado rápidamente originando la aparición de un quinto orden que va de “a” a “h” (Lee *et al.*, 2017; Marandino *et al.*, 2023) (Figura 11), siendo los del clado 2.3.4.4b descendientes de un subtipo H5N8 que surgió en Egipto en 2016 los promotores del tercer evento epizoótico (Antigua *et al.*, 2019; Xie *et al.*, 2023). Fue durante este período que el H5N8, se desplazó por la ruta migratoria del Mar Negro-Mediterráneo hacia el oeste de Rusia y Europa donde estuvo circulando en las regiones costeras desarrollando reordenamientos con diversos virus de IABP durante el 2019 dando origen a varios subtipos, ocasionado la aparición de una nueva variante H5N1 (Ramey *et al.*, 2022; Castro-Sanguinetti *et al.*, 2023; Shi *et al.*, 2023), que durante el período de 2020 a 2021 ocasionó un aumento de brotes en poblaciones de aves silvestres en Eurasia y África, así como, la segunda propagación transcontinental (Harvey *et al.*, 2023; Shi *et al.*, 2023; Xie *et al.*, 2023), que deriva de uno de los linajes provenientes de la ruta migratoria del Adriático, que circulo en el norte de Europa central, donde migró a Reino Unido, y dio un salto intracontinental; y el segundo, se mantuvo en Europa del este antes de provocar brotes en Eurasia (Rusia, China y Japón) durante 2021/22 (Shi *et al.*, 2023).

2.4.2. Surgimiento y propagación en América

El agente causante de la primera diseminación intercontinental de Asia hacia América fue el virus IAAP H5N8 (Ip *et al.*, 2015; Claes *et al.*, 2016; De Marco *et al.*, 2016), que llegó al continente a través del patrón migratorio de (Saito *et al.*, 2015; Claes *et al.*, 2016; Sims y Brown, 2017; Youk *et al.*, 2023):

1. Aves provenientes de Japón, que migran a la isla de San Lorenzo en Alaska y culminan su recorrido al retornar a la tundra siberiana; o
2. Especies que migran por la ruta del Pacífico Americano a través de la región de Beringia hacia el continente; región participe en la diseminación del virus tanto intracontinental como intercontinental, ya que en ella confluyen las rutas Asia oriental, Australasia, así como, la del Pacífico y central de América.

Dada dicha interrelación entre las rutas, dio pauta a la introducción del virus de IAAP H5 a través de Alaska, generando el primer brote en la región sur de la Columbia Británica, Canadá; presentándose posteriormente otro caso al norte de Washington, E.U.A; culminando con una dispersión del virus por Norte América, que se logró controlar para el período 2015/16, que ocasionando la muerte de diversas poblaciones de aves silvestres, más de 50 millones de aves domésticas, y una pérdida económica de \$3 billones de dólares (Ramey *et al.*, 2022).

La segunda introducción de un descendiente de linaje Gs/Gd en América, deriva de un virus aislado en los Países Bajos en octubre de 2020, denominado A/Eurasianwigeon/Netherlands/1/2020(H5N1) (Figura 12) (Shi *et al.*, 2023). Fue en diciembre de 2021 en una granja de St. John, ciudad ubicada en la península de Avalon de la provincia de Terranova y Labrador en la costa atlántica de Canadá donde se notificó el primer caso del virus IAAP H5N1 en el continente (Caliendo *et al.*, 2022; Rasmussen *et al.*, 2023). Donde los tres patrones migratorios que posiblemente promovieron la dispersión del virus de Europa hacia América fueron (Caliendo *et al.*, 2022; Günther *et al.*, 2022):

- a) Aves provenientes de Europa del norte que hacen una escala en Islandia antes de terminar su migración en regiones de Groenlandia y/o del Alto Ártico canadiense;
- b) Migración desde el noroeste de Europa hasta el Alto Ártico canadiense y/o el noroeste de Groenlandia, donde algunas aves parten hacia la Bahía de Baffin teniendo contacto con aves marinas del Ártico que se desplazarán a la costa atlántica canadiense durante el otoño; y
- c) Migración directa de Europa del norte a través del Océano Atlántico hasta su arribo a costas del atlántico americano, presentándose una transmisión pelágica.

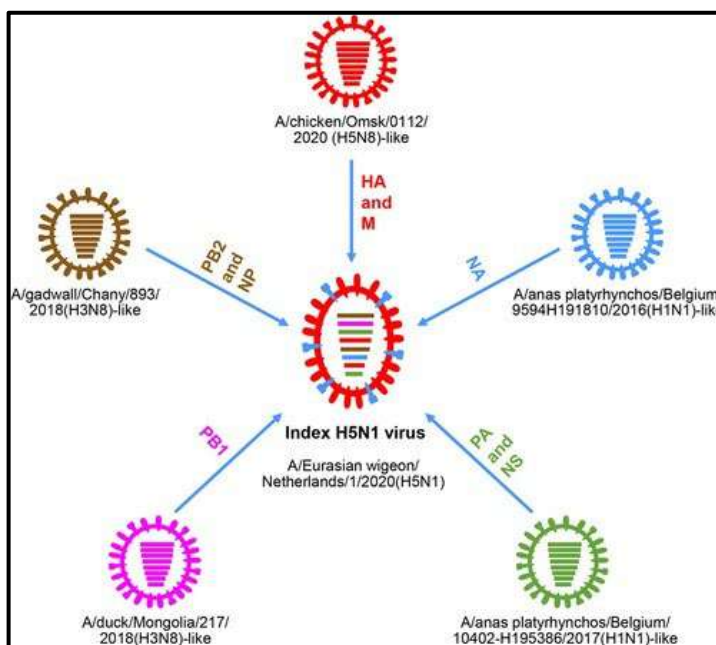


Figura 12. Formación del virus H5N1 clado 2.3.4.4b (Shi *et al.*, 2023).

No obstante, en febrero de 2022, en la Columbia Británica, Canadá se asiló de un águila cola blanca (*Haliaeetus albicilla*) un virus de IAAP H5N1 similar a los virus reportados previamente en el continente, que a su vez estaba genéticamente relacionado con virus del genotipo G7 reportados en Hokkaido, Japón a principios de 2022 (Alkie *et al.*, 2023; J. Shi *et al.*, 2023); indicando la presencia de un cuarto patrón de introducción del virus hacia el continente pudiera ser a través de la ruta migratoria Asia Oriental-Australasia/Pacífico.

La dispersión del virus por el continente después de presentarse en las costas del atlántico canadiense, fue debido a la migración de aves acuáticas al sur a través de la ruta del Atlántico, ocasionando brotes en los estado de Carolina del Norte y del Sur en Estado Unidos, y posteriormente una diseminación hacia el centro del continente (Bevins *et al.*, 2022), llegando a Colombia donde se reportó inicialmente en Sudamérica, de ahí el virus se propagó por el sur del continente a través de la ruta del Pacífico (Marandino *et al.*, 2023). Detectándose H5NI en poblaciones de aves domésticas, aves silvestres, mamíferos terrestres (cánidos, mefitidos y úrsidos) (EFSA, *et al.*, 2023) y mamíferos marinos (fócidos y cetáceos) (Leguia *et al.*, 2023) ; con base, a reportes brindados por los organismos de sanidad animal de Argentina, Bolivia, Brasil, Canadá, Chile, Colombia, Costa Rica, Cuba, Ecuador, Estados Unidos de América, Guatemala, Honduras, México, Panamá, Perú, Uruguay y Venezuela (OPS y OMS, 2023). Todos estos virus han conservado los segmentos parentales HA, NA y M de origen europeo; en cambio, los segmentos NP, NS, PA, PB1 y PB2, han presentado reordenamientos con virus IABP circulantes en poblaciones silvestres del continente (Marandino *et al.*, 2023).

El impacto de estos brotes ha sido considerable, para fines de 2022 los gobiernos de Estados Unidos y Canadá estimaron que el virus había provocado la muerte de un total de 33,504 aves silvestres y para la primavera del 2023 con el objetivo de reducir propagación en aves de producción se realizó la matanza de 7 millones de aves en Canadá y más de 58 millones de aves en Estados Unidos (Cutlip, 2023; Rasmussen *et al.*, 2023), ocasionando pérdidas de 1.7 billones de dólares para EE.UU (Farahat *et al.*, 2023); en México, a principios de 2023 cercas de 5 millones 981 mil 105 aves se vieron afectadas (Navarro-López *et al.*, 2023^b); en Sudamérica fueron las poblaciones de fauna silvestre en Chile y Perú, las que se vieron más afectadas ya que el virus ocasionó la muerte del más del 40% de las poblaciones de pelicanos (Adlhoch y Baldinelli, 2023), por ejemplo, en Perú ocasionó la muerte masiva de más de 50,000 aves silvestres entre pelicanos peruano (*Pelecanus thagus*) y piqueros peruanos (*Sula variegata*), así como la

mortalidad de 3,108 lobos marinos (*Otaria flavescens*) (Castro-Sanguinetti *et al.*, 2023; Gamarra-Toledo *et al.*, 2023); y en Chile, ocasionó la muerte de 9,000 aves marinas y más de 3,300 leones marinos (Leguia *et al.*, 2023).

En octubre de 2023, en poblaciones de lobos marinos sudamericanos (*Otaria flavescens*) presentes en Santa Catarina, Brasil; comenzaron a registrarse casos del virus de IAAP H5N1 clase 2.3.4.4 pertenecientes al genotipo B3.2 (Araújo *et al.*, 2023). Y a principios de octubre de 2023, comenzó la incursión del virus H5N1 hacia la Antártida, registrándose primero en la región del sub-Antártico en las Islas Malvinas, y posteriormente dio un salto hacia el Antártico donde se registró en la isla Bird, Georgia del Sur donde ocasionó mortalidad en poblaciones de pájaro marrón (*Stercorarius antarcticus*). Pero a finales del mes hubo mortalidades en poblaciones de elefantes marinos del sur (*Mirounga leonine*) en la región del puerto de Moltke, Georgia del Sur donde los virus causantes de este brote provienen del genotipo B3.2 (Bennison *et al.*, 2023).

2.5. Diagnóstico

Los métodos diagnóstico del IAV se encuentran agrupados en dos grupos: a) el virológico, el cual contempla las técnicas destinadas al aislamiento del virus mediante cultivos celulares o en huevos embrionados de pollo, la detección de antígenos y la amplificación del genoma mediante protocolos de reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscripción (RT-PCR); b) el serológico, enfocado en la detección y medición de anticuerpos en sueros aplicando las pruebas de inmunodifusión en gel agar (AGID), ensayo inmuno enzimático (ELISA) o inhibición de la hemaglutinación (HI). (OPS, 2010; Carballal y Oubiña, 2015; Spackman, 2020; Swayne *et al.*, 2020; Blagodatski *et al.*, 2021). Sin embargo, para Spackman (2020) la detección del virus dependerá del tiempo en la cual se esté llevando la infección activa, donde la ventana para emplear ciertos métodos será corta, por lo que, para determinar una exposición previa del hospedante al agente podrá demostrarse mediante la detección de anticuerpos (Figura 13).

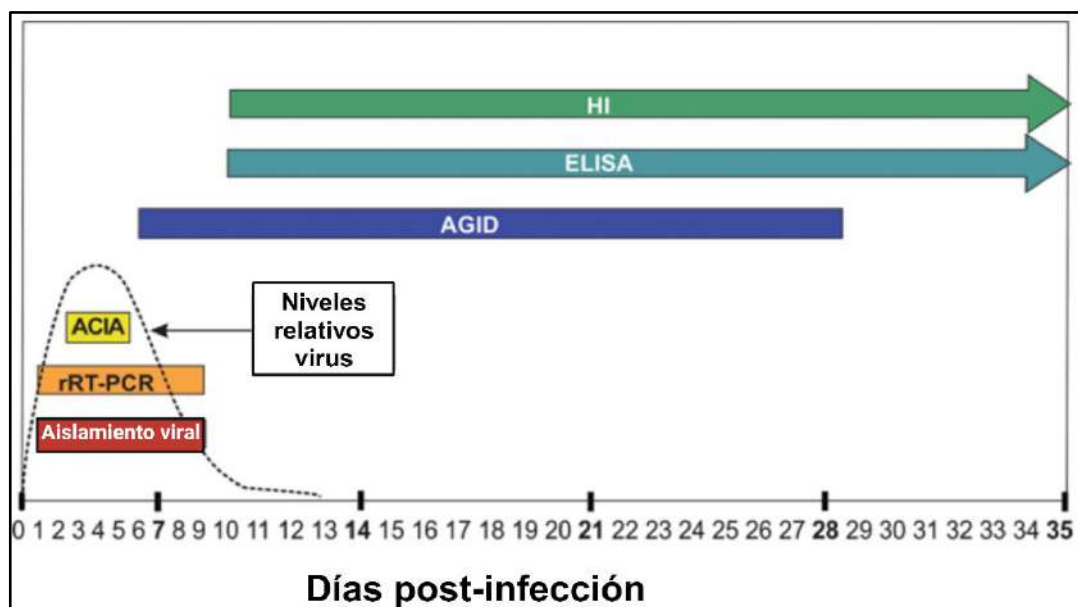


Figura 13. Tiempos relativos para determinar una infección del virus de Influenza. Los diagnósticos virológicos se aplican en primeros días de la infección y los serológicos en la detección de una postinfección (Spackman, 2020).

2.5.1. Aislamiento viral

En los métodos de detección del agente, están los cultivos celulares, para los cuales se emplean principalmente células de aves como fibroblastos de embriones de pollo para aislamientos de muestras de origen aviar, aunque también se llegan a emplear células de mamífero como MDCK (células riñón de perro Madin-Darby, siglas en inglés Madin-Darby Canine Kidney), que se aplican principalmente muestras provenientes de mamíferos (OPS, 2010; WHO, 2011; Spackman, 2020;). No obstante, a pesar de la aparición de técnicas de identificación, el uso de huevo embrionados de pollo (ECE) continua siendo una técnica estándar de oro, debido a su sensibilidad para el aislamiento y replicación de muestras virales, aunque actualmente su uso se restringe a cierto tipo de virus, como los paramixovirus (Carballal y Oubiña, 2015; OPS, 2010; Blagodatski *et al.*, 2021). El proceso de detección en ECE, parte de la inoculación vía alantoidea de suspensiones de resguardo viral de hisopados orofaríngeos, cloacales, heces u órganos, siendo el primero la matriz biológica predilecta para los aislamientos del virus (OMSA *et al.*, 2023; Rose *et al.*, 2007; Spackman, 2020); diversos autores han establecido que el

número máximo de embriones para realizar dichos ensayos serían de 5 a 10 embriones por muestra sospechosa (NOM-044-ZOO-1995, 1996; NOM-055-ZOO-1995, 1998; Dufour-Zavala *et al.*, 2008), los cuales posteriormente se incuban a un rango de temperatura de 35 a 39°C durante un período de 2 a 7 días (NOM-044-ZOO-1995, 1996; Dufour-Zavala *et al.*, 2008; OPS, 2010; Spackman, 2020; OMSA *et al.*, 2023).

2.5.2. Detección de antígenos

El fluido amnioalantoideo (FA) recuperado de los ECE inoculados, es sometido a ensayos de determinación antigénica como, la detección de la actividad hemaglutinante, mediante la prueba de hemaglutinación (HA); inclusive AGID, ELISA o HI (OMSA *et al.*, 2023). La técnica de HA, determina la capacidad de unión de la proteína de superficie viral, la hemaglutinina con el ácido N-acetilneuramínico presente en los eritrocitos de mamíferos y aves (Spackman, 2020); sin embargo, dado que el IAV no es el único agente que puede producir aglutinación de eritrocitos es necesario la aplicación de otras pruebas antigénicas (OMSA *et al.*, 2023). La confirmación del virus se puede determinar con el uso de AGID, la cual es una técnica que comprueba la presencia de antígenos de la nucleocápside o la matriz de una muestra de FA, mediante su reacción con antisueros; la técnica de ELISA va detectar anticuerpos contra dichos antígenos a partir de sueros problemas; en cambio, la prueba de HI medirá el grado de interferencia de la unión de HA con los receptores de los eritrocitos, mediante la adición de un anticuerpo específico (NOM-056-ZOO-1995, 1999; Dufour-Zavala *et al.*, 2008; WHO, 2011; Carballal y Oubiña, 2015; Spackman, 2020; OMSA *et al.*, 2023).

2.5.3. Detección molecular

El vIA al presentar un genoma de ssRNA(-), es necesario realizar la síntesis de un DNA complementario (cDNA) a partir del cual se realizara una reacción de amplificación logarítmica del DNA (OPS, 2010; Spackman, 2020). En las reacciones

de amplificación, es necesario la adición de cebadores, los cuales son secuencias genéticas específicas y conservadas de un antígeno o proteína de interés; para la detección de cualquier IAV se emplean secuencias del gen de matiz, debido a que es el menos variable de los 8 segmentos genómicos, en cambio, HA y NA se aplicaran la identificación del subtipo y/o variantes del mismo (OPS, 2010; Spackman, 2020; OMSA *et al.*, 2023).

III. JUSTIFICACIÓN

Debido al origen evolutivo de los virus de influenza tipo A y su conexión en la participación y propagación de la influenza aviar entre diversas especies, incluido el ser humano y las aves de producción a nivel mundial, es crucial describir y detectar el grado de variaciones antigénicas y moleculares asociadas con la alta virulencia que presentan los virus de influenza aviar circulantes en poblaciones de aves silvestres quienes participan como su reservorio natural. Esta evaluación se centra en poblaciones de aves silvestres, tanto endémicas como migratorias, que cohabitan en el territorio nacional, para comparar las variaciones con los virus reportados en aves de producción en México.

IV. HIPÓTESIS

El virus de influenza aviar aislado en aves silvestres presenta marcadores moleculares de patogenicidad y evolutivos en común, con los virus registrados y reportados en aves de producción de la República Mexicana.

V. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Detectar marcadores moleculares asociados con la patogenicidad y virulencia del virus de influenza aviar tipo A en aves domésticas y silvestres de México, y el establecimiento de sus relaciones evolutivas.

5.2. Objetivos específicos

- 5.2.1. Detectar marcadores moleculares asociados a la alta patogenicidad en secuencias del virus de influenza de aves domésticas y silvestres de México.
- 5.2.2. Construir árboles filogenéticos para determinar las relaciones evolutivas entre los virus identificados de aves silvestres y los reportados de brotes en aves de producción en México.

VI. METODOLOGÍA

6.1. Bioética

El presente proyecto de investigación fue sometido y aprobado por el Comité de Bioética de Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro, con número de folio **104FCN2023**.

6.2. Obtención de secuencias de nucleótidos

Para los ensayos bioinformáticos se emplearon las secuencias de H5N2 (n=15), H7N3 (n=13), y otros subtipos (n=3) (Anexo I) reportadas por el Departamento de Salud Pública de la Universidad de Georgia en agosto de 2024. Las cuales se alinearon usando la herramienta Clustal Omega 1.2.2 presente en el programa Geneious Prime® 2025.0.2 (Tan *et al.*, 2019) para realizar la identificación de marcadores moleculares específicos para cepas de H5N2 y H7N3. De igual manera, a partir del ensayo resultante se realizó un análisis de alineamiento múltiple de Blast (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) para poder efectuar la elaboración de los ensayos bioinformáticos, los cuales para incrementar su eficiencia se seleccionó el programa Megablast (Morgulis *et al.*, 2008) excluyendo las secuencias que tuvieran un porcentaje de identidad < 95%, una cobertura < 90%, y una región codificante incompleta. Al aplicar los criterios de exclusión se obtuvieron en total 660 secuencias para el virus H5N2: PB2 (n=226), PB1 (n=210), PA (n=219), HA (n=246), NP (n=196), NA (n=253), MP (n=195) y NS(n=173); y 949 secuencias para el virus H7N3: PB2 (n=149), PB1 (n=184), PA (n=191), HA (n=200), NP (n=161), NA (n=155), MP (n=181) y NS(n=172). Todas las secuencias están disponibles públicamente en la base de datos GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) consultada el 11 de octubre de 2024.

6.3. Numeración de marcadores moleculares asociados con patogenicidad

Para identificar los marcadores moleculares de patogenicidad específicos de H5N2 y H7N3 se utilizó la base de datos disponible en GISAID (<https://gisaid.org/about-us/acknowledgements/epiflu/>) (Elbe y Buckland-Merrett, 2017), y la evaluación *in silico* realizada por Dadonaite *et al.* (2024). Al obtener el consenso de los marcadores, se obtuvo el gen codificante para cada una de las proteínas de superficie, internas y no estructurales, de las secuencias de H5N2 (n=15), H7N3 (n=13), y otros subtipos (n=3) usando la herramienta EasyGene (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/EasyGene-1.2/>) (Larsen y Krogh, 2003), y la función de identificación del ORF en el programa Geneious Prime® 2025.0.2, con la finalidad de retirar las regiones no codificantes de las secuencias.

Para la localización de los marcadores de los segmentos 1, 2, 3, 5, 7 y 8 se emplearon las secuencias de la cepa A/goose/Guangdong/1/96(H5N1) (Suttie *et al.*, 2019), que se encuentran disponibles públicamente en la base de datos GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) consultada el 15 de octubre de 2024. Se usaron las secuencias de la cepa GsGd/96 como base en la numeración e identificación de los marcadores en las proteínas virales debido a que esta cepa es considerada la precursora de las cepas de IAAP H5NX que han afectado a diversas especies de aves y mamíferos (Wan, 2012).

Para el segmento 4 primero se implementó la herramienta SignalP 4.1 (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/SignalP-4.1/>) (Nielsen, 2017; Petersen *et al.*, 2011) para identificar y realizar la escisión del péptido señal N-terminal de las secuencias, y posteriormente con la herramienta ProP 1.0 (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/ProP-1.0/>) (Duckert *et al.*, 2004) se determinó el sitio de escisión de HA0. Finalmente, los marcadores se identificaron con base a la numeración del gen H3 de la cepa A/Aichi/2/1968(H3N2) (con número de acceso en GenBank CY121119.1) a partir del modelo propuesto por Burke y Smith (2014).

En cambio, en el segmento 6 inicialmente se definieron sus regiones estructurales usando la herramienta DeepTMHMM (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/DeepTMHMM-1.0/>) (Krogh, 1997), y después la secuencia de aminoácidos se enumeró con base al modelo establecido por Colman *et al.* (1993), quienes realizan la numeración de marcadores moleculares en relación al gen N2 de la cepa A/Aichi/2/1968(H3N2) (Colman *et al.*, 1993; Suttie *et al.*, 2019). Para el segmento 4 y 6, se hizo uso de la cepa A/Aichi/2/1968(H3N2) como secuencia molde debido a que ha sido la cepa representate del proceso de deriva antigénica desde que emergió en 1968, y a que es uno de los principales subtipos que circula tanto en poblaciones de aves como de diversas especies de mamíferos (Fang *et al.*, 1981; Zou *et al.*, 2020).

6.4. Árbol de máxima credibilidad de clado

Las secuencias de H5N2 (n=660) y H7N3 (n=949) fueron alineadas con cada segmento genómico de la cepa A/Woodpeckers/Chiapas/001-01/2023(H4N6) para evaluar su relación evolutiva con las secuencias de aves domésticas identificadas. Para iniciar con el ensayo filogenético, inicialmente se tuvo que determinar el modelo de sustitución de nucleótidos en el programa en jModelTest v2.1.10 (Darriba *et al.*, 2012; Guindon y Gascuel, 2003).

El modelo de sustitución obtenido se empleó para realizar un análisis bayesiano enfocado en evaluar la dinámica evolutiva del virus mediante la aplicación del modelo bayesiano de Cadena de Markov Monte Carlo (MCMC) en el programa BEAST v1.10.4 (Hill y Baele, 2019). La configuración del modelo de dinámica evolutiva se ajustó con las siguientes parámetros en la herramienta Beauti: a) un modelo coalescente constante (Gill *et al.*, 2012), b) un modelo de reloj relajado con Log normal (Drummond *et al.*, 2006), c) se calibraron con la variable de fechas de muestreo, d) se añadieron particiones de hospedante y lugar de colección (Kainer y Lanfear, 2015) ajustadas con la selección de variables de búsqueda estocástica bayesiana (BSSVS) con la finalidad de limitar el número de parámetros

durante la evaluación de las tasas de transición (Lemey *et al.*, 2009), y e) el modelo de sustitución de nucleótidos. El modelo de MCMC se ejecutó a 100 millones con un muestreo cada 1,000 generaciones, la convergencia de las cadenas del modelo MCMC y el tamaño muestral se evaluaron usando Tracer 1.5 (<http://beast.bio.ed.ac.uk>), obteniendo valores de ESS ≥ 150 (Rambaut *et al.*, 2018).

Finalmente, el árbol de máxima credibilidad de clado (MCC, Maximum Clade Credibility) se obtuvo en el programa TreeAnnotator v.1.10.4 (Drummond y Rambaut, 2007), aplicado un burnin del 10%, y se visualizó en el programa FigTree v1.4.4 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

6.5. Difusión filogeográfica

La visualización gráfica del origen para los virus H5N2 y H7N3 se realizó mediante una reconstrucción especial a partir del modelo bayesiano del árbol obtenido mediante MCC usando spreadD3 v0.9.6 (Bielejec *et al.*, 2011) en el cual se efectuó un análisis de difusión filogeográfica en espacio discreto (Faria *et al.*, 2011), y para inferir la ruta de dispersión más significativa para las particiones se calculó el factor bayes (BF_{10}) a partir del análisis BSSVS (de Carvalho *et al.*, 2013; Lemey *et al.*, 2009), al cual para facilitar su esquematización en Cytoscape v3.10.3 (Shannon *et al.*, 2003) se le efectuó una normalización logarítmica (Dittrich *et al.*, 2020). La difusión filogeográfica espacial del análisis del MCC se ejecutó en Google Earth Pro v7.3.6.9796 (Bielejec *et al.*, 2011)

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Evaluación de virus H5N2 de México

7.1.1. Identificación de marcadores de patogenicidad

Se realizó un alineamiento usando la herramienta Clustal del programa Geneious Prime® 2025.0.2 (Tan *et al.*, 2019) para cada una de las proteínas viral, para poder realizar a partir de los cuales se efectuó la identificación de un total de 73 marcadores moleculares de patogenicidad (Cuadro 2) específicos para el subtipo H5N2.

En relación a la proteína HA, a partir de su alineamiento y con ayuda de la herramienta ProP 1.0 (Duckert *et al.*, 2004), se determinó que la secuencia multibásica del sitio de escisión de HA0 (HACS) (Figura 14) se presenta en la posición 326 (numeración H3), con base al alineamiento se determinó que la mayoría de las secuencias de H5N2 contaban una secuencia multibásica de aminoácidos (KRKR/GLF) que les confiere un patotipo de IAAP (Abdelwhab *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2021); sin embargo, en tres cepas se observó una secuencia (KKTR/GLF) reportada solamente en virus de mediana patogenicidad (Horimoto *et al.*, 1995), los cuales se aíslan con frecuencia en patos y gansos domésticos causándoles infecciones respiratorias (Swayne y Suarez, 2000), a diferencia de los pollos donde las infecciones se restringen en pulmones y riñones (Abdelwhab *et al.*, 2013); y solamente las cepas A/chicken/Hidalgo/28159-232/1994(H5N2) y A/chicken/Queretaro/22-6/04/2022(H5N2) tuvieron un patotipo de IABP (Abdelwhab *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2021). En relación a los subtipos H4N6, H2N9 y H1N1, todos presentaron características propias de un patotipo de IABP con base a la secuencia consenso descrita por (Luczo y Spackman, 2025); en relación al subtipo H5N2, se ha establecido que el patotipo circulante en México hasta Junio de 1995 fue el de IAAP, y posteriormente el patotipo IABP, el cual se volvió endémico en poblaciones de aves domésticas de diversas regiones de México como de países vecinos (Villarreal-Chávez y Rivera-Cruz, 2003; Lee *et al.*, 2004).

Cuadro 2. Marcadores de patogenicidad de cada proteína viral en cepas H5N2.

Proteína	Marcadores	Efecto	Referencia
HA	17	6% promueve deriva antigénica	(Youk <i>et al.</i> , 2021)
		12% incrementa patogenicidad en aves domésticas	(Youk <i>et al.</i> , 2021)
		12% promueve cambios en el pH de fusión del virión	(Mair <i>et al.</i> , 2014)
		23% incremento de la patogenicidad en virus H5N2	(Wu <i>et al.</i> , 2016; Laleye y Abolnik, 2020)
		47% incrementa afinidad al receptor SA α -2,6 Gal	(Imai <i>et al.</i> , 2012; Li <i>et al.</i> , 2015; Meseko <i>et al.</i> , 2023; Erdelyan <i>et al.</i> , 2024; Saad <i>et al.</i> , 2024)
NA	9	11% incrementa afinidad al receptor SA α -2,6 Gal	(Li <i>et al.</i> , 2015)
		33% promueve adaptabilidad en aves domésticas	(Abdelwhab <i>et al.</i> , 2013; Youk <i>et al.</i> , 2021)
		56% promueve resistencia a antivirales	(Bialy y Shelton, 2020; Laleye y Abolnik, 2020)
PB2	13	8% incrementa mortalidad en aves domésticas	(Pflug <i>et al.</i> , 2014; Youk <i>et al.</i> , 2021)
		38% incrementa actividad de polimerasas a 33°C	(Li <i>et al.</i> , 2015; Tarendeau <i>et al.</i> , 2008; Wang <i>et al.</i> , 2016; Lee <i>et al.</i> , 2020; Bordes <i>et al.</i> , 2023; Youk <i>et al.</i> , 2023)
		54% incrementa replicación en mamíferos	(Tarendeau <i>et al.</i> , 2008; Li <i>et al.</i> , 2015; Taft <i>et al.</i> , 2015; Trinh <i>et al.</i> , 2021; Zhu <i>et al.</i> , 2015)
PB1	7	14% incrementa mortalidad en pollos	(Youk <i>et al.</i> , 2021)
		29% incrementa actividad de polimerasas a 37°C	(Youk <i>et al.</i> , 2021)
		57% promueve replicación en mamíferos	(Wu <i>et al.</i> , 2016; Lee <i>et al.</i> , 2020a; Tian <i>et al.</i> , 2021;)

Cuadro 5. (Continuación)

Proteína	Marcadores	Efecto	Referencia
PB1-F2	4	25% incrementa la patogenicidad del virus	(Conenello <i>et al.</i> , 2007)
		75% incrementa virulencia en aves domésticas	(Kamal <i>et al.</i> , 2017)
PA	6	17% incrementa virulencia de virus IABP H5N2	(Nam <i>et al.</i> , 2017)
		33% disminuye respuesta antiviral en el hospedante	(Yang <i>et al.</i> , 2023)
		50% promueve adaptación en mamíferos	(Wu <i>et al.</i> , 2016; Lee <i>et al.</i> , 2020a)
NP	4	25% incrementa mortalidad en aves domésticas	(Youk <i>et al.</i> , 2021)
		25% incrementa patogenicidad en virus H5N2	(Laleye y Abolnik, 2020)
		25% inhibe la respuesta antiviral en el hospedante	(Li <i>et al.</i> , 2015)
		25% incrementa replicación en mamíferos	(Wu <i>et al.</i> , 2016)
M1	3	100% promueve adaptabilidad y virulencia en mamíferos	(Lee <i>et al.</i> , 2020a; Meseko <i>et al.</i> , 2023)
M2	5	20% incrementa patogenicidad en aves domésticas	(Youk <i>et al.</i> , 2021)
		20% incrementa virulencia en mamíferos	(Meseko <i>et al.</i> , 2023)
		60% promueve resistencia a antivirales	(Musharrafieh <i>et al.</i> , 2020)
NS1	3	33% aumenta diseminación en aves acuáticas	(Youk <i>et al.</i> , 2021)
		33% disminuye respuesta antiviral en el hospedante	(Meseko <i>et al.</i> , 2023)
		33% incrementa actividad de las polimerasas a 33°C	(Youk <i>et al.</i> , 2021)
NEP	2	50% incrementa patogenicidad del H5N2 en mamíferos	(Wu <i>et al.</i> , 2016)
		50% disminuye respuesta antiviral en el hospedante	(Meseko <i>et al.</i> , 2023)

Sin embargo, Lee *et al.* (2017) ha descrito que los virus IAAP H5 se caracterizan por presentar una secuencia consecutiva de 4 aminoácidos básicos en su sitio de escisión de HA0, y un aumento de los mismos no incrementará su patogenicidad en aves domésticas; por otro lado, Luczo y Spackman (2025) evaluaron que los virus IAAP H5 en asociación con subtipo N2 de linaje americano presentan mayoritariamente una inserción multibásica de mediana longitud (RKKR/G) que una inserción extensa (REKREKR/G). En relación a lo descrito anteriormente, se puede plantear que el subtipo IAAP H5N2 no ha sido erradicado a pesar de que su último reporte en 1995 (Villarreal, 2009), ya que con base a la evaluación del HACS de las secuencias se establece que en México se encuentran interactuando tres diferentes patotipos.

SECUENCIA	326	329	330
A/chicken/Estado de Mexico/02-15/02/2023	K K T R	-	G L F
A/chicken/Estado de Mexico/19-10/2018	K R K R	-	G L F
A/chicken/Estado de Mexico/192/08/2018	K R K R	-	G L F
A/chicken/Guanajuato/1121-7/06/2022	K R K R	-	G L F
A/chicken/Hidalgo/28159-232/1994	R E T R	-	G L F
A/chicken/Jalisco/3-8/08/2022	K K T R	-	G L F
A/chicken/Jalisco/8-4/03/2020	K R K R	-	G L F
A/chicken/Puebla/1-14/02/2023	K K T R	-	G L F
A/chicken/Queretaro/5-2/01/2019	R K T R	-	G L F
A/chicken/Queretaro/5/07/2023	K K T R	-	G L F
A/chicken/Queretaro/05/2023	K K T R	-	G L F
A/chicken/Queretaro/6-13/04/2021	K K T R	-	G L F
A/chicken/Queretaro/011/07/2020	K R K R	-	G L F
A/chicken/Queretaro/22-6/04/2022	R E I R	-	G L F
A/Mexico/INER-INF645_HA/2024(H5N2)	K R K R	-	G L F
A/Woodpeckers/Chiapas/001/01/2023(H4N6)	K A T R	-	G L F
A/avian/Aguascalientes/J28/2013(H2N9)	I E S R	-	G L F
A/chicken/Queretaro/5-01/2019(H1N1)	I Q R R	-	G L F

Figura 14. Secuencia del HACS en virus H5N2.

Durante la identificación de marcadores de patogenicidad se apreció una divergencia en la sustitución de aminoácidos en las cepas H5N2 (Cuadro 3), por ejemplo se observó que diversas cepas presentaban la sustitución de la serina en la posición 145 por una prolina, asociada con promover la deriva antigénica y reducir la respuesta inmune en pollos (Youk *et al.*, 2021), en cambio, otras tenían una asparagina, o una lisina, las cuales promueven la evasión de la respuesta humoral

y un incremento en la afinidad al receptor SA α -2,6 Gal (Dadonaite *et al.*, 2024). Se observó que la mayoría de las cepas H5N2 de pollo y la cepa A/Mexico/INER-INF645_HA/2024(H5N2) presentaban una asparagina en la posición 158 (S158N) un marcador relacionado con favorecer la relacionada con la afinidad de unión al receptor SA α -2,6 Gal (Meseko *et al.*, 2023), con lo que se puede inferir que son las cepas de aves domésticas las que podrían favorecer la adaptación y el salto zoonótico hacia los mamíferos.

Aunque ninguna cepa con excepción de la aislada en Chiapas presentaron la mutación T160A que favorece a un incremento en la afinidad al receptor SA α -2,6 Gal (Suttie *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2024), contaban en su lugar con una valina en dicha posición, la cual se ha asociado con promover la evasión de la respuesta humoral (Dadonaite *et al.*, 2024). Una de las mutaciones claves en promover el cambio de afinidad de receptor aviar hacia receptor humano es el marcador Q226L (Imai *et al.*, 2012; Suttie *et al.*, 2019), el cual estuvo ausente en todas las cepas con la excepción de un hallazgo importante en la cepa H1N1 debido a que contaba con una arginina en lugar de una leucina en dicha posición, dicha sustitución se ha descrito que es un mutación clave en promover el cambio de afinidad hacia el receptor SA α -2,6 (Dadonaite *et al.*, 2024). Adicionalmente, en las cepas aisladas en Aguascalientes (2013), Estado de México (2023), Jalisco (2022), Puebla, y Querétaro (2021 - 2023) se observaron marcadores asociados a la patogenicidad de cepas H5N1 como D101N, V214I, S159N, T192I, y S137; en cambio, la cepa A/Mexico/INER-INF645_HA/2024(H5N2) presentó sustituciones de aminoácidos con efectos zoonóticos potenciales en los sitios 101S, 216T, y 227R (Elbe y Buckland-Merrett, 2017).

Para la proteína NA, las cepas H5N2 provenientes de aves domésticas en conjunto con la cepa A/Mexico/INER-INF645/2024(H5N2) contaban con una delección de 20 aminoácidos en la región del tallo, el cual es un patrón de delección presente en el subtipo N2 circulante en países como EE.UU., El Salvador,

Guatemala, Japón, México y Taiwán (Li *et al.*, 2011), dicha delección se encuentra asociada con la adaptación de la NA circulante en aves silvestres hacia aves domésticas (Abdelwhab *et al.*, 2013; Suttie *et al.*, 2019). Dentro del análisis de los marcadores, con excepción del cambio del ácido glutámico en la posición 368 (E368K) asociado con aumentar la actividad de la neuraminidasa durante la replicación en células de pollos (Youk *et al.*, 2021) en las cepas de H5N2, no hubo algún otro cambio asociado con el incremento en la patogenicidad de las cepas.

Continuando con la identificación de marcadores en las proteínas de superficie, internas y no estructurales del virus (Cuadro 3), en la proteína PB2 la mayoría de las cepas se observó la presencia conjunta de cambios en los aminoácidos de la posición 89V, 309D, 339K, 447Q, 495V, y 676T; se pudo analizar que de haber contado con una glicina en la posición 447 en lugar de una glutamina, el efecto resultante hubiera sido incrementar la virulencia en mamíferos compensando el efecto *per se* de la mutación E627K (Trinh *et al.*, 2021). La proteína PB1, se presentó cuatro marcadores de los cuales dos mejoran la actividad de replicación de la polimerasa a 33°C (D3V y D622G) (Tian *et al.*, 2021), y los otros dos a 37°C (R215K y M317V) (Youk *et al.*, 2021), en cambio, en la primera proteína no estructural analizada (PB1-F2) se apreciaron las mutaciones T51M y N66S en la mayoría de las cepas (Cuadro 3), estos cambios de aminoácidos indican que existe una adaptación evidente del virus que circulaba en aves silvestres hacia pollos (Kamal *et al.*, 2017), y por ende un incremento de su patogenicidad en las aves domésticas (Conenello *et al.*, 2007; Kamal *et al.*, 2017).

Se observaron mutaciones aisladas en PA (S409N y K615R) que tienen como objetivo promover la adaptación hacia mamíferos (Lee *et al.*, 2020a), sin embargo, estos cambios fueron establecidos como mutaciones potenciales, debido a que necesita la presencia conjunta de las mutaciones D701N (PB2), R198K (PB1) y N66S (PB1-F2) (Cuadro 3) para promover un salto zoonótico. Similar a lo ocurrido en PA, en la proteína NP se observaron mutaciones claves (Y289H, R351K, y

Q357K) que participan inhibiendo la respuesta inmunológica del hospedante (Li *et al.*, 2015), incrementando la patogenicidad de los virus H5N2 (Laleye y Abolnik, 2020), y favoreciendo su replicación en mamíferos (Wu *et al.*, 2016); este conjunto de mutaciones se observaron solamente en la cepa A/chicken/Queretaro/5-01/2019(H1N1) (Cuadro 3), sin embargo, sus efectos se desarrollan con la presencia conjunta de mutaciones en la proteína PB2 (Q591K y D701N), PA (I554V), HA (N170D y S227N), y NA (I56T).

Para concluir con el análisis de las mutaciones en las cepas de H5N2, se observó que en la proteína M1 la mayoría de las cepas tenían marcadores (V15I, N30D, y T215A) claves para incrementar y promover la adaptación del virus hacia mamíferos (Lee *et al.*, 2020a; Meseko *et al.*, 2023), en M2 hubo el cambio hacia una asparagina en la posición 31, asociada con promover la resistencia hacia antivirales en cepas H5N2 (Meseko *et al.*, 2023). Evaluando conjuntamente la diversidad de marcadores, se infiere que los virus H5N2 circulantes en México están desarrollando cambios que mejoran su capacidad de replicación en el tracto respiratorio superior de mamíferos (Bordes *et al.*, 2023), y que las aves domésticas pudieran ser las que actúen como donantes de los marcadores hacia poblaciones silvestres.

Cuadro 3. Marcadores moleculares identificados en H5N2 de 2017 - 2024

[illegible]

Espacios en blanco (-) simboliza que las cepas presentan el aminoácido de la secuencia base, y el amarillo indica ausencia de la secuencia genómica para dicho segmento.

Numeración H3 para identificar marcadores en HA se usó como secuencia molde la cepa A/Aichi/2/1968(H3N2)

Numeración N2 para identificar marcadores en NA se usó como secuencia molde la cepa A/Aichi/2/1968(H3N2)

7.1.2. Análisis filogenéticos

Se diseñaron árboles filogenéticos para cada una de las proteínas del genoma viral, considerando los rasgos de fecha de colección, región geográfica, y hospedante. En relación a la proteína HA al realizar la comparación del número de cambios de nucleótidos de las cepas de H5N2 con la cepa proveniente de ave silvestre (H4N6) se observa una diferencia entre nucleótidos promedio de 877.74, que al ser evaluado con la distancia genética tuvo un valor promedio de 1.39 (Kimura, 1980) (Cuadro 3) indicando que existe una gran divergencia entre las cepas, con un ancestro en común distante (Kimura, 1980; Nei y Kumar, 2000); aplicando la interpretación al árbol de MCC se observa que el gen HA de A/Woodpeckers/Chiapas/001/01/2023(H4N6) tiene un origen evolutivo distinto al de los virus H5NX (Anexo II), tal como lo describe Carnell *et al.* (2015) y Jang y Seong (2019) quienes indican que por la diversidad antigénica y similitud entre secuencias los subtipos H3, H4, H7, H10, H14, y H15 conforman al grupo 2 , y H1, H2, H5, H6, H8, H9, H11, H12, H13, H16, H17, y H18 integran el grupo 1; motivo por el cual el subtipo H4 tiene una rama independiente a las secuencias de H5NX.

Cuadro 4. Distancias genéticas entre grupos para el gen HA de H5.

	Gp_1	Gp_13	Gp_12	Gp_14	Gp_15	Gp_16	Gp_18	Gp_17	Gp_19	Gp_9	Gp_7	Gp_11	Gp_8	Gp_10	Gp_5	Gp_6	Gp_4	Gp_2	Gp_3
Gp_1																			
Gp_13	1.3690																		
Gp_12	1.4284	0.1312																	
Gp_14	1.4427	0.1185	0.0580																
Gp_15	1.4587	0.1515	0.1019	0.0759															
Gp_16	1.4580	0.1662	0.1160	0.0882	0.0367														
Gp_18	1.4834	0.1783	0.1312	0.1027	0.0536	0.0442													
Gp_17	1.4908	0.1714	0.1246	0.0976	0.0484	0.0408	0.0293												
Gp_19	1.4794	0.1783	0.1282	0.0984	0.0507	0.0401	0.0250	0.0273											
Gp_9	1.3601	0.1729	0.0999	0.1107	0.1385	0.1499	0.1629	0.1564	0.1607										
Gp_7	1.3403	0.1778	0.1038	0.1145	0.1420	0.1545	0.1715	0.1609	0.1671	0.0643									
Gp_11	1.3530	0.1314	0.0430	0.0636	0.1050	0.1185	0.1323	0.1256	0.1288	0.0736	0.0795								
Gp_8	1.3257	0.1558	0.0824	0.0917	0.1260	0.1387	0.1520	0.1430	0.1487	0.0420	0.0460	0.0570							
Gp_10	1.3252	0.1572	0.0850	0.0954	0.1281	0.1414	0.1546	0.1470	0.1509	0.0362	0.0470	0.0588	0.0265						
Gp_5	1.3503	0.2012	0.1416	0.1473	0.1900	0.1989	0.2107	0.2024	0.2063	0.1014	0.1019	0.1184	0.0794	0.0860					
Gp_6	1.3556	0.1997	0.1387	0.1477	0.1881	0.1981	0.2123	0.2033	0.2100	0.0974	0.0968	0.1154	0.0756	0.0817	0.0324				
Gp_4	1.3431	0.2009	0.1304	0.1415	0.1762	0.1877	0.2026	0.1936	0.1993	0.0901	0.0915	0.1070	0.0700	0.0766	0.0577	0.0555			
Gp_2	1.3347	0.2054	0.1466	0.1537	0.1855	0.2013	0.2146	0.2053	0.2107	0.1002	0.1026	0.1226	0.0785	0.0840	0.0768	0.0741	0.0714		
Gp_3	1.3522	0.1890	0.1240	0.1318	0.1647	0.1780	0.1912	0.1815	0.1880	0.0801	0.0826	0.0989	0.0580	0.0650	0.0554	0.0520	0.0479	0.0376	

Análisis la distancia genética involucro 246 secuencias que cuales fueron categorizadas en grupos para su posterior evaluación usando el modelo de Kimura de 2 parámetros modelado con distribución gamma en MEGA 11. Valores 0 – 0.05 distancia baja(estrechamente relacionadas), 0.05 – 0.2 distancia moderada (relativamente relacionadas), 0.2-1.0 distancia alta (distantemente relacionadas), y >1.0 distancia muy alta (altamente divergentes) (Kimura, 1980; Nei y Kumar, 2000; Tamura *et al.*, 2021; Van De Peer y Salemi, 2009).

En la proteína NA al comparar los cambios de nucleótidos de las cepas de H5N2 con la cepa proveniente de ave silvestre (H4N6) esta presentaba una diferencia entre nucleótidos promedio de 686.37, y un valor de distancia genética promedio de 1.18 (Kimura, 1980) (Cuadro 8), si bien el subtipo N2 y N6 se encuentran en el grupo 2 de clasificación antigénica para NA (Jang y Seong, 2019) fue esta diferencia de nucleótidos y su distancia genética lo que promovió que el gen NA de A/Woodpeckers/Chiapas/001/01/2023(H4N6) tuviera una rama evolutiva diferente al subtipo N2 (Anexo IV)

Cuadro 5. Distancias genéticas entre grupos para el gen NA de N2.

	Gp_1	Gp_2	Gp_5	Gp_8	Gp_3	Gp_6	Gp_4	Gp_10	Gp_11	Gp_7	Gp_9	Gp_16	Gp_18	Gp_20	Gp_19	Gp_17	Gp_15	Gp_12	Gp_14	Gp_13
Gp_1																				
Gp_2	1.1639																			
Gp_5	1.2207	0.0733																		
Gp_8	1.1602	0.1277	0.0969																	
Gp_3	1.2302	0.0624	0.0330	0.0930																
Gp_6	1.2239	0.0797	0.0397	0.0894	0.0403															
Gp_4	1.2388	0.0635	0.0273	0.0900	0.0203	0.0356														
Gp_10	1.1730	0.0887	0.0545	0.0559	0.0538	0.0452	0.0506													
Gp_11	1.1547	0.0946	0.0580	0.0652	0.0605	0.0513	0.0555	0.0189												
Gp_7	1.1642	0.0898	0.0550	0.0671	0.0559	0.0449	0.0481	0.0226	0.0289											
Gp_9	1.1786	0.0863	0.0516	0.0554	0.0492	0.0424	0.0460	0.0104	0.0175	0.0187										
Gp_16	1.1939	0.2104	0.1689	0.1850	0.1747	0.1662	0.1698	0.1494	0.1503	0.1512	0.1486									
Gp_18	1.1794	0.1979	0.1612	0.1761	0.1627	0.1562	0.1588	0.1407	0.1446	0.1411	0.1381	0.0657								
Gp_20	1.1938	0.2036	0.1708	0.1836	0.1735	0.1658	0.1713	0.1502	0.1522	0.1515	0.1473	0.0791	0.0357							
Gp_19	1.1819	0.2109	0.1775	0.1911	0.1817	0.1724	0.1784	0.1569	0.1580	0.1555	0.1534	0.0775	0.0350	0.0305						
Gp_17	1.1912	0.2001	0.1600	0.1717	0.1620	0.1556	0.1588	0.1386	0.1422	0.1391	0.1361	0.0668	0.0427	0.0597	0.0574					
Gp_15	1.1708	0.1885	0.1589	0.1868	0.1585	0.1584	0.1563	0.1501	0.1588	0.1554	0.1484	0.1426	0.1242	0.1448	0.1422	0.1245				
Gp_12	1.1666	0.1323	0.1028	0.1219	0.1044	0.0933	0.0950	0.0826	0.0875	0.0806	0.0800	0.1341	0.1165	0.1257	0.1320	0.1184	0.1275			
Gp_14	1.1946	0.1514	0.1162	0.1361	0.1165	0.1098	0.1112	0.0952	0.1032	0.0964	0.0937	0.0996	0.0835	0.0961	0.0989	0.0816	0.0929	0.0602		
Gp_13	1.1888	0.1442	0.1098	0.1285	0.1104	0.1035	0.1073	0.0895	0.0967	0.0914	0.0877	0.1177	0.1019	0.1112	0.1173	0.1018	0.1119	0.0592	0.0445	

Análisis la distancia genética involucro 253 secuencias que cuales fueron categorizadas en grupos para su posterior evaluación usando el modelo de Kimura de 2 parámetros modelado con distribución gamma en MEGA 11. Valores 0 – 0.05 distancia baja(estrechamente relacionadas), 0.05 – 0.2 distancia moderada (relativamente relacionadas), 0.2-1.0 distancia alta (distantemente relacionadas), y >1.0 distancia muy alta (altamente divergentes) (Kimura, 1980; Nei y Kumar, 2000; Tamura *et al.*, 2021; Van De Peer y Salemi, 2009).

A realizar la evaluación a partir del árbol del MCC, se observó que:

- I) Los virus H5N2 evaluados de México derivan evolutivamente de poblaciones domésticas y silvestres circulantes en Canadá y EE.UU. durante la década de los 80's (Anexo III y IV), lo cual coincide con lo evaluado por Pei *et al.* (2009) quienes describió que el subtipo H5N2 se ha asilado en la región de Norteamérica desde 1975.

- II) El subtipo H5 tuvo su origen evolutivo del subtipo H5N1 y H5N2 de aves domésticas (Anexo III) a diferencia de la N2, la cual proviene de los subtipos H3N2, H4N2, H5N2, H6N2, H9N2, y H11N2 (Anexo IV); esta dinámica de donación de segmentos coincide con lo establecido por Ping *et al.* (2012) quienes detallan que el subtipo H5N2 emergió a partir de reordenamientos genómicos con virus IABP de aves silvestres presentes en la región de las Américas.
- III) El clado mexicano tiene una relación evolutiva con los virus aislados de Pennsylvania de 1983 a 1984 (Anexo III), causantes del segundo brote de H5N2 en la región de Norteamérica (Horimoto *et al.*, 1995; García *et al.*, 1997).
- IV) Las cepas aisladas inicialmente en México durante octubre de 1993 a enero de 1995 presentan una relación con el virus A/chicken/Pennsylvania/3609/1993(H5N2) (Anexo III) tal como lo describió (García *et al.*, 1996).
- V) El clado H5N2 de México, promovió una dispersión intra como intercontinental, ya que las cepas identificadas en la República Dominicana (2007) y en Taiwán (2008 a 2013) tenían una relación evolutiva con la cepa A/chicken/Hidalgo/28159–232/1994(H5N2) (Lee *et al.*, 2014; Chung *et al.*, 2020); en cambio, el linaje centroamericano, identificado en Guatemala (1998) y El Salvador (2001) contaban con un origen evolutivo proveniente de la cepa A/chicken/Chiapas/15405/1997(H5N2) (Suarez *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2004), y el subtipo H5N2 que emergió en Japón durante el 2005 (Okamatsu *et al.*, 2007) presentaba una relación con el linaje centroamericano (Anexo III y IV).

7.1.3. Difusión geográfica

Para visualizar dispersión epidemiológica del subtipo H5N2 mexicano se empleó una dinámica espacio-temporal, mediante la conversión de la síntesis del árbol de MCC hacia una filogenia espacial empleando una escala de tiempo realizada con SpreaD3. A partir de dicha escala espacio-temporal se apreció que el

subtipo H5 fue introducido a México desde la región oriental de Canadá (Ontario) y nororiental de EE.UU (Minnesota) (Figura 15) fuertemente soportados por un factor de Bayes (BF_{10}) >4.61 , indicando que existe una evidencia probabilística decisiva (Dittrich *et al.*, 2020) de que el evento de diseminación de H5 fuera a partir de Canadá y EE.UU. (Anexo V), en conjunto con el análisis espacial se determinó que la transmisión del segmento HA involucro poblaciones de aves domésticas y silvestres en donde se observó un vínculo altamente significativo de una difusión hacia Galliformes domésticos a partir de Anseriformes silvestres ($BF_{10}=4.16$) más que de una transmisión de aves domésticas hacia aves silvestres ($BF_{10}=2.73$) (Figura 16) estableciendo que la transmisión del segmento fue promovida por poblaciones silvestres, lo cual fue establecido por Hill *et al.* (2022) quienes determinaron que dichas poblaciones actúan como promotores de la expansión geográfica de los virus de influenza.

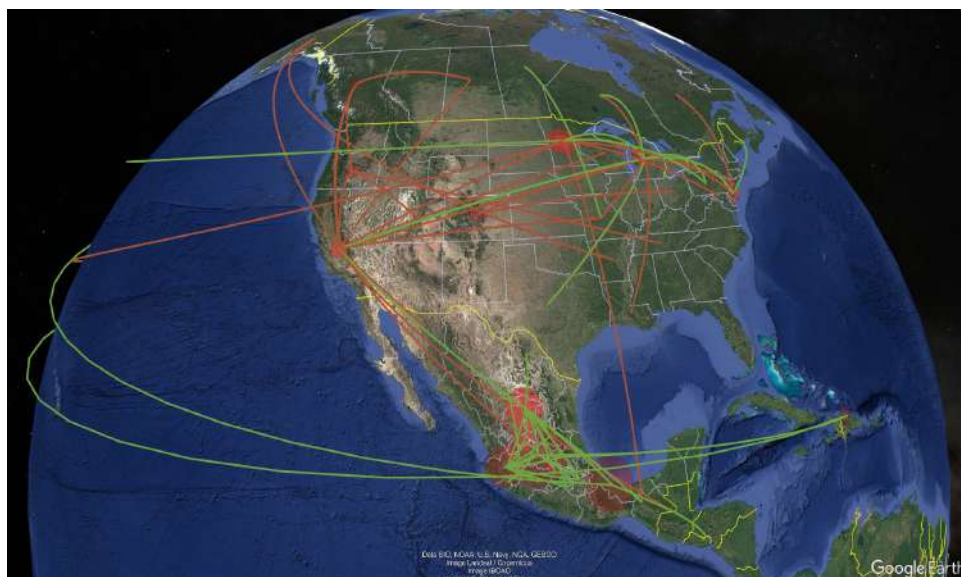


Figura 15. Difusión geográfica de segmento HA del virus H5N2 de México⁷.

Sin embargo, una vez que comenzó la incursión del H5 en México durante la última década del siglo XX el virus no presentó reordenamiento del segmento 4

⁷ El esquema de difusión espacio-temporal se estandarizó por colorimetría: naranja representa la difusión por aves silvestres, verde por aves domésticas (pollos, pavos, patos y gansos), y rojo por mamíferos.

con virus silvestres circulantes, provocando que a partir de 2002 a 2013 el linaje norteamericano se dividiera en el clado Américo-canadiense, y el clado mexicano (Anexo III) (Mateus-Anzola *et al.*, 2021; Xu *et al.*, 2022), para el caso particular del clado mexicano se presentaron casos aislados de la donación del gen HA de aves domésticas hacia aves silvestres (2007 y 2017) y mamíferos (2014 y 2024), tal como lo descrito por Mateus-Anzola *et al.* (2021), quienes detallaron que las cepas aisladas de H5N2 en suinos tenían una relación evolutiva con cepas de aves silvestres y aves domésticas de México, más que con los aislados identificados en poblaciones de aves silvestres de 2002 a 2013 circulantes en Norteamérica, dicho argumento se sustentó con el valor probabilístico de $BF_{10} = 3.69$ (Figura 16), indicando que hay una muy fuerte evidencia (Dittrich *et al.*, 2020) para determinar que las aves domésticas participaron en donación de HA hacia los mamíferos. También se puede denotar una dispersión intercontinental de H5N2 hacia Asia de cepas provenientes de Norteamérica y Centroamérica, y una intracontinental (República Dominicana, Guatemala y El Salvador) a partir de virus circulantes en México (Figura 15).

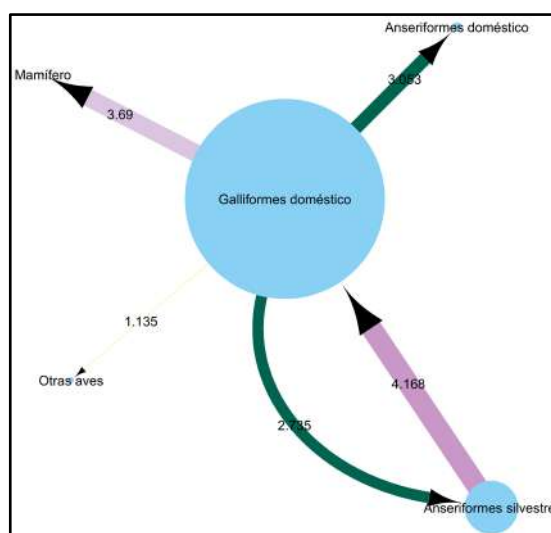


Figura 16. Red de inferencia de transmisión del hospedantes para HA de H5N2⁸.

⁸ La red de inferencia se estandarizó con las flechas que indican la dirección de la diseminación, un valor numérico de la tasa del BF_{10} , un nodo proporcional al número de cepas aisladas. La línea amarilla soporte $BF_{10} < 2.3$ (substantial), verde $> 2.4 BF_{10} < 3.4$ (fuerte), y lila $> 3.4 BF_{10} < 4.61$ (muy fuerte) (Dittrich *et al.*, 2020)

Analizando la diseminación del gen NA proviene de la región del medio oeste de EE.UU. (Minnesota) (Figura 17) sustentado con un valor de $BF_{10} > 4.61$ (Anexo V), a diferencia de la transmisión de hospedante de HA para NA se observaron vínculos altamente significativos de una difusión de Anseriformes silvestres hacia Galliformes domésticos ($BF_{10}=4.46$) como de Galliformes domésticos hacia Anseriformes silvestres ($BF_{10}=3.76$) (Figura 18) estableciendo que para el gen de NA se ha presentado una mezcla del subtipo N2 entre las poblaciones domésticas y silvestres. También se observó que la dispersión intercontinental (Asia), e intracontinental (República Dominicana, Guatemala y El Salvador) fue solamente a partir de los virus del clado mexicano (Figura 17).

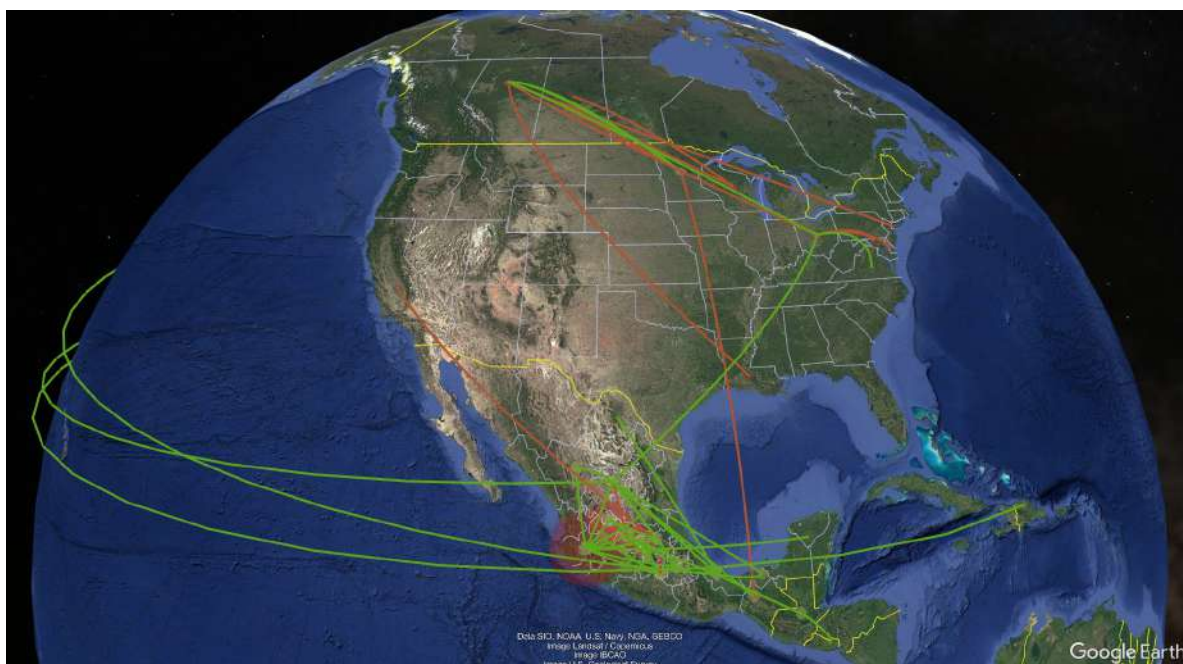


Figura 17. Difusión geográfica del segmento NA del virus H5N2 de México⁹.

Para finalizar con el análisis de la difusión geográfica, como se ha descrito anteriormente el clado mexicano no ha presentado reordenamiento de los segmentos (HA y NA) con virus silvestres, y que a su vez el mayor rango de

⁹ El esquema de difusión espacio-temporal se estandarizó por colorimetría: naranja representa la difusión por aves silvestres, verde por aves domésticas (pollos, pavos, patos y gansos), y rojo por mamíferos.

transmisión de segmentos se ha concentrado en la estados de la región centro y occidente de la México, estableciendo que los virus circulantes con el paso de los años pudieran estar acumulando episodios de deriva antigénica promoviendo de esta manera un incremento en la incidencia de infecciones por el vIA (Escorcía *et al.*, 2008, 2010; C.-W. Lee *et al.*, 2004), lo cual se ha establecido que puede ser causado por una práctica inconsistente de vacunación (Escorcía *et al.*, 2010), ya que desde que emergió el virus H5N2, la vacunación comenzó con la cepa A/chicken/México/CPA/232/94(H5N2), posteriormente en 2005 se realizó el cambio por A/chicken/México/435/2005/DCV(H5N2) (Villarreal, 2009), sin embargo, las cepas que se siguen implementado para la vacunación de aves en México son de aislados de 1986, 1994, 2006, 2015, y 2016 (SENASICA, 2025), dicha práctica es la que pudo fomentar el surgimiento de múltiples subclados del linaje mexicano (Anexo III y IV) y una mayor dispersión en zonas altas productoras (Figura 15 y 17), siendo entonces que para promover un correcto control en dispersión de los brotes y alentar la deriva genética del virus las vacunas a emplear deberían elaborarse con las cepas silvestres circulantes por región (Bojórquez *et al.*, 2015; Escorcía *et al.*, 2010; C.-W. Lee *et al.*, 2004).

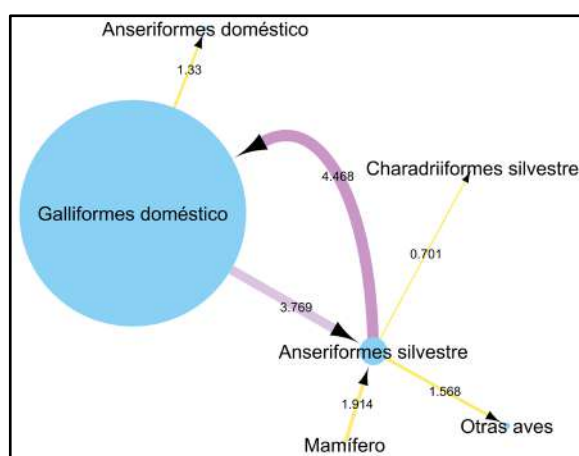


Figura 18. Red de inferencia de transmisión del hospedantes para NA de H5N2¹⁰

¹⁰ La red de inferencia se estandarizó con las flechas que indican la dirección de la diseminación, un valor numérico de la tasa del BF_{10} , un nodo proporcional al número de cepas aisladas. La línea amarilla soporte $BF_{10} < 2.3$ (substantial), verde $2.4 < BF_{10} < 3.4$ (fuerte), y lila $BF_{10} > 3.4$ (muy fuerte) (Dittrich *et al.*, 2020).

7.2. Evaluación del virus H7N3 de México

7.2.1. Identificación de marcadores de patogenicidad

El alineamiento mediante Clustal Omega 1.2.2 en el programa Geneious Prime® 2025.0.2 se realizó para cada una de las proteínas viral, para la identificación de un total de 47 marcadores moleculares (Cuadro 5) específicos para el subtipo H7N3.

En relación a la proteína HA se empleó la herramienta ProP 1.0 (Duckert *et al.*, 2004) para determinar la secuencia multibásica del HACS (Figura 19) a partir de la posición 326 (numeración H3) se encontró que las cepas H7N3 de aves domésticas presentaban un patotipo de IAAP debido a que contaban con una inserción de 4 aminoácidos básicos (**HRKTR**/GLF) (Lee *et al.*, 2017), patrón observado que coincide con el identificado por Navarro-Lopez *et al.* (2022a) quienes establecieron que la inserción de aminoácidos en dicha posición mejora la replicación e infección en aves domésticas.

Cepa	Sitio escisión (326-329)											
A/chicken/Aguascalientes/12/2021	N	P	K	G	R	K	S	L	H	R	K	T R - G L F
A/chicken/Aguascalientes/10/2021	N	P	K	G	R	K	S	L	H	R	K	T R - G L F
A/chicken/Aguascalientes/4-10/2023	N	P	K	S	R	K	S	Q	H	R	K	T R - G L F
A/chicken/Estado-de-Mexico/09-06/2009	N	P	K	G	R	K	S	R	H	R	K	T R - G L F
A/chicken/Estado-de-Mexico/21-14/2014	N	P	K	G	R	E	S	R	H	R	K	T R - G L F
A/chicken/Jalisco/05/2018	N	P	K	G	R	K	S	R	H	R	K	T R - G L F
A/chicken/Jalisco/10/2021	N	P	K	G	R	K	S	L	H	R	K	T R - G L F
A/chicken/Jalisco/11/2023	N	P	K	S	R	K	S	Q	H	R	K	T R - G L F
A/chicken/Jalisco/16-07/2023	N	P	K	G	R	E	S	R	H	R	K	T R - G L F
A/chicken/Jalisco/86-1-03/2022	N	P	K	S	R	K	S	R	H	R	K	T R - G L F
A/chicken/Puebla/02/2019	N	P	K	G	R	K	S	R	H	R	K	T R - G L F
A/chicken/Queretaro/01/2018	N	P	K	G	R	K	S	R	H	R	K	T R - G L F
A/cinnamon teal/Mexico/2817/2006(H7N3)	N	P	K	T	-	-	-	-	-	-	-	R - G L F
A/Woodpeckers/Chiapas/001/01/2023(H4N6)	K	A	T	-	-	-	-	-	-	-	-	R - G L F
A/chicken/Queretaro/5-01/2019(H1N1)	I	Q	S	-	-	-	-	-	-	-	-	R - G L F
A/avian/Aguascalientes/J28/2013(H2N9)	I	E	S	-	-	-	-	-	-	-	-	R - G L F

Figura 19. Secuencia del HACS en virus H7N3.

Cuadro 6. Marcadores de patogenicidad de cada proteína viral en cepas H7N3.

Proteína	Marcadores	Efecto	Referencia
HA	7	72% incrementa afinidad al receptor SA α -2,6	(Suttie <i>et al.</i> , 2019; Navarro-Lopez <i>et al.</i> , 2022a)
		14% incrementa patogenicidad en aves domésticas	(Laleye y Abolnik, 2020)
		14% promueven cambios en el pH de fusión del virión	(Sun <i>et al.</i> , 2019; Navarro-Lopez <i>et al.</i> , 2022a)
NA	9	100% promueve resistencia a antivirales	(Navarro-Lopez <i>et al.</i> , 2022a)
PB2	11	64% incrementa replicación en mamíferos	(Suttie <i>et al.</i> , 2019; Trinh <i>et al.</i> , 2021; Lee <i>et al.</i> , 2020a; Navarro-Lopez <i>et al.</i> , 2022a)
		18% incrementa patogenicidad en aves domésticas	(Laleye y Abolnik, 2020; Bordes <i>et al.</i> , 2023)
		18% incrementa actividad de polimerasas a 33°C	(Tarendeau <i>et al.</i> , 2008; Li <i>et al.</i> , 2015; Zhu <i>et al.</i> , 2015)
PB1	7	71% promueve adaptación en mamíferos	(Trinh <i>et al.</i> , 2021)
		29% promueve replicación en aves y mamíferos	(Trinh <i>et al.</i> , 2021; Navarro-Lopez <i>et al.</i> , 2022a)
PB1-F2	1	100% promueve replicación en mamíferos	(Suttie <i>et al.</i> , 2019; Trinh <i>et al.</i> , 2021)
PA	8	76% incrementa replicación en mamíferos	(Trinh <i>et al.</i> , 2021; Navarro-Lopez <i>et al.</i> , 2022a)
		12% mejora actividad de las polimerasas	(Navarro-Lopez <i>et al.</i> , 2022a)
		12% disminuye actividad de las polimerasas	

Cuadro 6. Continuación

Proteína	Marcadores	Efecto	Referencia
NP	1	100% incrementa patogenicidad en aves domésticas	(Navarro-Lopez <i>et al.</i> , 2022a)
M1	3	67% incrementa patogenicidad en mamíferos 33% incrementa patogenicidad en el hospedante	
M2	1	100% promueve resistencia a antivirales	
NS1	4	75% incrementa patogenicidad en mamíferos	(Trinh <i>et al.</i> , 2021; Navarro-Lopez <i>et al.</i> , 2022a)
		25% incrementa patogenicidad en aves domésticas	(Navarro-Lopez <i>et al.</i> , 2022a)

Similar a como ocurre en virus H5, los virus H7 también pueden presentar una inserción de longitud corta, mediana o extendida (Luczo y Spackman, 2025); para las cepas de H7N3 de aves domésticas se observó una inserción de 13 aminoácidos de los cuales 7 eran básicos con base a estas características se definió que los virus presentaban una secuencia de HACS extendida, debido a que Luczo y Spackman (2025) describen que un H7 de longitud extendida debe presentar una modificación de 11 a 15 aminoácidos, contar con más de 5 aminoácidos básicos y estar asociados con el subtipo N3 mayoritariamente. En relación a la cepa de H7N3 silvestre esta contaba con patotipo de IABP, al conservar la secuencia típica de virus IABP H7 (NPKTR/GLF) (Lee *et al.*, 2017, y como se describió anteriormente, los subtipos H4N6, H2N9 y H1N1, muestran un patotipo de IABP (Luczo y Spackman, 2025).

Evaluando los marcadores de patogenicidad (Cuadro 10), solamente en la cepa de Aguascalientes (2023) y Jalisco (2022 y 2023) presentó la sustitución de alanina en la posición 157, asociado con incrementar la patogenicidad en aves domésticas (Laleye y Abolnik, 2020). La proteína NA no presentó delección en el tallo lo cual coincide con lo descrito por Abdelwhab *et al.* (2013) quienes establecieron que en virus H7N3 de linaje mexicano no cuentan con delección en la región del tallo, a pesar de que en otras regiones (EE.UU., Italia, Pakistán, y Reino Unido) si han reportado delecciones en H7N3 (Li *et al.*, 2011) asociadas con promover un incremento de la patogenicidad en mamíferos (Trinh *et al.*, 2021).

Continuando con la identificación de marcadores en las proteínas de superficie, internas y no estructurales del virus (Cuadro 10), se observó que en PB2 la mayoría de las cepas contaban con mutaciones claves (L89V, I292V, K389R, y H447Q) que incrementan la actividad de las polimerasas en mamíferos (Suttie *et al.*, 2019; Lee *et al.*, 2020b; Trinh *et al.*, 2021; Navarro-Lopez *et al.*, 2022). En PB1, se dio el cambio de una valina en la posición 3, la cual promueve una mejora en la

actividad de las polimerasas en aves y mamíferos (Suttie *et al.*, 2019; Navarro-Lopez *et al.*, 2022), a pesar de que las cepas presentaron la mutación K328N, clave para promover la adaptación en mamíferos quedo solamente como mutación potencial ya que necesita la presencia conjunta de A127N (Trinh *et al.*, 2021). En PA, se identificaron 4 mutaciones puntuales (S37A, V63I, N383D, y N409S) la cuales se han asociado con incrementar la actividad de las polimerasas en mamíferos (Navarro-Lopez *et al.*, 2022); sin embargo, todas las cepas contaban con el marcador P190S, el cual podría ejercer un efecto antagónico ya que disminuye la actividad viral de H7N3 (DesRochers *et al.*, 2016).

Para la proteína NP, las cepas presentaban la mutación A184K asociada con incrementar la patogenicidad en aves domésticas (Navarro-Lopez *et al.*, 2022), y las mutaciones observadas en M1, M2 y NS1 se encuentran asociadas con promover una mejora en la replicación viral en mamíferos (Navarro-Lopez *et al.*, 2022), con la excepción de la mutación V149A, la cual incrementa la virulencia en aves domésticas (Suttie *et al.*, 2019; Navarro-Lopez *et al.*, 2022).

Cuadro 7. Marcadores moleculares identificados en H7N3 de 2009 – 2023

Cepa	PB2										PB1							PA							HA					NA		NP	M1	M2	NS1													
	L89V	I292V	K389R	H447Q	K326R	R684H	L589I	Q591K	V598T	E627K	D701N	D3V	I368V	K328N	A127N	L598P	G622D	S78N	N68S	S37A	V63I	P190S	F227S	L336M	N383D	N409S	K497R	S126N	A157T	G186V	V214I	Q228L	G228S	K393E	I117T	E119V	R292K	A246T	A184K	N30D	I43M	T215A	S31N	P42S	D92E	I106M	V149A	
A/goose/Guangdong/1/96	V	I	R	Q	K	V	R	Q	T	F	D	V	I	N	Q	P	G	S	N	A	I	S	F	E	D	S	K	T	S	S	I	E	S	G	T	F	R	A	K	D	M	A	S	A	D	M	A	
A/chicken/Aguascalientes/12/2021	-	V	R	Q	-	I	R	-	-	-	-	V	-	N	Q	-	-	-	S	A	I	S	E	-	D	S	-	T	N	-	T	-	-	-	T	-	-	-	K	D	M	A	N	S	-	M	A	
A/chicken/Aguascalientes/10/2021	-	V	R	Q	-	I	R	-	-	-	-	V	-	N	Q	-	-	-	S	A	I	S	F	-	D	S	-	T	N	-	T	-	-	-	T	-	-	-	K	D	M	A	N	S	-	M	A	
A/chicken/Aguascalientes/4-10/2023	V	V	R	Q	-	I	R	-	-	-	-	V	-	N	Q	-	-	-	S	A	I	S	E	-	D	S	-	T	T	-	T	-	-	-	T	-	-	-	K	D	M	A	N	S	-	M	A	
A/chicken/Estado-de-Mexico/09-06/2009	V	V	R	Q	-	I	R	-	-	-	-	V	-	N	Q	-	-	-	S	A	I	S	E	-	D	S	-	T	N	-	T	-	-	-	T	-	-	-	K	D	M	A	N	S	-	M	A	
A/chicken/Estado-de-Mexico/21-14/2014	-	V	R	Q	-	I	R	-	-	-	-	V	-	N	Q	-	-	-	S	A	I	S	E	-	D	S	-	T	N	-	T	-	-	-	T	-	-	-	K	D	M	A	N	S	-	M	A	
A/chicken/Jalisco/05/2018	V	V	R	Q	-	I	R	-	-	-	-	V	-	N	Q	-	-	-	S	A	I	S	E	-	D	S	-	T	N	-	T	-	-	-	T	-	-	-	K	D	M	A	N	S	-	M	A	
A/chicken/Jalisco/10/2021	-	V	R	Q	-	I	R	-	-	-	-	V	-	N	Q	-	-	-	S	A	I	S	E	-	D	S	-	T	N	-	T	-	-	-	T	-	-	-	K	D	M	A	N	S	-	M	A	
A/chicken/Jalisco/11/2023	V	V	R	Q	-	I	R	-	-	-	-	V	-	N	Q	-	-	-	S	A	I	S	E	-	D	S	-	T	T	-	T	-	-	-	T	-	-	-	K	D	M	A	N	S	-	M	A	
A/chicken/Jalisco/16-07/2023	-	-	R	Q	-	I	R	-	-	-	-	V	-	N	Q	-	-	-	S	A	I	S	E	-	D	S	-	T	N	-	T	-	-	-	T	-	-	-	K	D	M	A	N	S	-	M	A	
A/chicken/Jalisco/86-1-03/2022	V	V	R	Q	-	I	R	-	-	-	-	V	V	N	Q	-	-	-	S	A	-	S	E	-	D	S	-	T	T	-	T	-	-	-	T	-	-	-	K	D	M	A	N	S	-	M	A	
A/chicken/Puebla/02/2019	V	V	R	Q	-	I	R	-	-	-	-	V	-	N	Q	-	-	-	S	A	I	S	E	-	D	S	-	T	N	-	T	-	-	-	T	-	-	-	K	D	M	A	N	S	-	M	A	
A/chicken/Queretaro/01/2018	V	V	R	Q	-	I	R	-	-	-	-	V	-	N	Q	-	-	-	S	A	I	S	E	-	D	S	-	T	N	-	T	-	-	-	T	-	-	-	K	D	M	A	N	S	-	M	A	
A/cinnamon teal/Mexico/2817/2006	V	-	R	Q	-	V	R	-	-	-	-	V	-	N	Q	-	-	-	S	A	-	S	E	-	D	S	-	T	N	-	T	-	-	-	T	-	-	-	K	D	M	A	-	S	-	M	A	
A/Woodpeckers/Chiapas/001/01/2023(H4N6)	V	-	R	Q	-	V	R	-	-	-	-	V	-	N	Q	-	-	-	S	A	-	S	E	-	D	S	-	Q	S	S	-	-	-	N	T	-	-	-	K	D	M	A	-	A	-	M	A	
A/avian/Aguascalientes/J28/2013(H2N9)	V	-	R	Q	-	V	R	-	-	-	-	V	-	N	Q	-	-	-	S	A	-	S	E	-	D	S	-	S	K	S	K	R	-	-	D	T	-	-	-	K	D	M	A	-	S	-	M	A
A/chicken/Queretaro/5-01/2019(H1N1)	V	V	R	Q	-	V	R	R	-	-	-	V	-	N	Q	-	-	-	-	A	-	S	E	M	D	-	-	Q	K	N	I	-	-	G	-	-	-	S	K	S	M	A	N	S	-	M	A	

Espacios en blanco (-) simboliza que las cepas presentan el aminoácido de la secuencia base

Numeración H3 para HA se usó como secuencia base la cepa A/Aichi/2/1968(H3N2)

Numeración N2 para NA se usó como secuencia base la cepa A/Aichi/2/1968(H3N2)

7.2.2. Análisis filogenéticos

Se realizaron construcciones filogenéticas para cada una de las proteínas del genoma viral considerando fecha de colección, región geográfica, y hospedante. En relación a la proteína HA al realizar la comparación del número de cambios de nucleótidos de las cepas de H7NX evaluadas con la cepa proveniente de ave silvestre (H4N6) se observó un valor de diferencia entre nucleótidos promedio de 854.53, y con un valor de distancia genética promedio de 1.14, con base al modelo de Kimura de 2 parámetros (Kimura, 1980) (Cuadro 11). Similar a lo observado con árbol de MCC de H5NX el gen HA de A/Woodpeckers/Chiapas/001/01/2023(H4N6) tuvo un origen evolutivo distinto al de los virus H7NX (Anexo VI), a pesar de que el subtipo H4 y H7 se encuentran en el grupo 1 de clasificación antigénica de HA (Carnell *et al.*, 2015; Jang y Seong, 2019), esto como posible resultado de la amplia diferencia entre las distancias genéticas de la cepa H4N6 en relación con las cepas H7NX del análisis.

Cuadro 8. Distancias genéticas entre grupos del gen HA de H7.

	Gp_1	Gp_2	Gp_5	Gp_8	Gp_3	Gp_6	Gp_4	Gp_10	Gp_11	Gp_7	Gp_9	Gp_16	Gp_18	Gp_20	Gp_19	Gp_17	Gp_15	Gp_12	Gp_14	Gp_13
Gp_1																				
Gp_2	1.1639																			
Gp_5	1.2207	0.0733																		
Gp_8	1.1602	0.1277	0.0969																	
Gp_3	1.2302	0.0624	0.0330	0.0930																
Gp_6	1.2239	0.0797	0.0397	0.0894	0.0403															
Gp_4	1.2388	0.0635	0.0273	0.0900	0.0203	0.0356														
Gp_10	1.1730	0.0887	0.0545	0.0559	0.0538	0.0452	0.0506													
Gp_11	1.1547	0.0946	0.0580	0.0652	0.0605	0.0513	0.0555	0.0189												
Gp_7	1.1642	0.0898	0.0550	0.0671	0.0559	0.0449	0.0481	0.0226	0.0289											
Gp_9	1.1786	0.0863	0.0516	0.0554	0.0492	0.0424	0.0460	0.0104	0.0175	0.0187										
Gp_16	1.1939	0.2104	0.1689	0.1850	0.1747	0.1662	0.1698	0.1494	0.1503	0.1512	0.1486									
Gp_18	1.1794	0.1979	0.1612	0.1761	0.1627	0.1562	0.1588	0.1407	0.1446	0.1411	0.1381	0.0657								
Gp_20	1.1938	0.2036	0.1708	0.1836	0.1735	0.1658	0.1713	0.1502	0.1522	0.1515	0.1473	0.0791	0.0357							
Gp_19	1.1819	0.2109	0.1775	0.1911	0.1817	0.1724	0.1784	0.1569	0.1580	0.1555	0.1534	0.0775	0.0350	0.0305						
Gp_17	1.1912	0.2001	0.1600	0.1717	0.1620	0.1556	0.1588	0.1386	0.1422	0.1391	0.1361	0.0668	0.0427	0.0597	0.0574					
Gp_15	1.1708	0.1885	0.1589	0.1868	0.1585	0.1584	0.1563	0.1501	0.1588	0.1554	0.1484	0.1426	0.1242	0.1448	0.1422	0.1245				
Gp_12	1.1666	0.1323	0.1028	0.1219	0.1044	0.0933	0.0950	0.0826	0.0875	0.0806	0.0800	0.1341	0.1165	0.1257	0.1320	0.1184	0.1275			
Gp_14	1.1946	0.1514	0.1162	0.1361	0.1165	0.1098	0.1112	0.0952	0.1032	0.0964	0.0937	0.0996	0.0835	0.0961	0.0989	0.0816	0.0929	0.0602		
Gp_13	1.1888	0.1442	0.1098	0.1285	0.1104	0.1035	0.1073	0.0895	0.0967	0.0914	0.0877	0.1177	0.1019	0.1112	0.1173	0.1018	0.1119	0.0592	0.0445	

Análisis la distancia genética involucro 200 secuencias que cuales fueron categorizadas en grupos para su posterior evaluación usando el modelo de Kimura de 2 parámetros modelado con distribución gamma en MEGA 11. Valores 0 – 0.05 distancia baja(estrechamente relacionadas), 0.05 – 0.2 distancia moderada (relativamente relacionadas), 0.2-1.0 distancia alta (distantemente relacionadas), y >1.0 distancia muy alta (altamente divergentes) (Kimura, 1980; Nei y Kumar, 2000; Tamura *et al.*, 2021; Van De Peer y Salemi, 2009).

En la proteína NA al compararse la diferencia entre nucleótidos de las cepas de HXN3 con la cepa proveniente de ave silvestre (H4N6) se obtuvo un valor promedio de 698.60, y a diferencia de lo observado con el segmento HA en esta ocasión el segmento de NA presentó relación evolutiva con subtipos N3 circulantes en aves silvestres de EE.UU. (Anexo VII), esto pudo deberse a que el subtipo N6 y N3 están más estrechamente relacionados entre sí (Jang y Seong, 2019). Sin embargo, para evaluar la distancia genética de la cepa con los subtipos HXN3, se integró en un grupo independiente (Grupo 7) como se muestra en el Cuadro 12, obteniendo una distancia genética promedio de 1.21, con base al modelo de Kimura de 2 parámetros (Kimura, 1980).

Cuadro 9. Distancias genéticas entre grupos del gen NA de N3.

	Gp_7	Gp_17	Gp_16	Gp_13	Gp_19	Gp_18	Gp_2	Gp_1	Gp_4	Gp_3	Gp_10	Gp_11	Gp_9	Gp_5	Gp_6	Gp_8	Gp_15	Gp_14	Gp_12
Gp_7																			
Gp_17	1.20410																		
Gp_16	1.27549	0.02956																	
Gp_13	1.19159	0.05998	0.03629																
Gp_19	1.21269	0.04781	0.05098	0.08038															
Gp_18	1.19220	0.03139	0.03240	0.06229	0.02298														
Gp_2	1.20576	0.08982	0.05996	0.04279	0.11181	0.09476													
Gp_1	1.20868	0.09339	0.06228	0.04620	0.11427	0.09610	0.02078												
Gp_4	1.18199	0.08474	0.05631	0.03916	0.10872	0.09037	0.01325	0.02165											
Gp_3	1.20743	0.08707	0.05790	0.04066	0.10969	0.09203	0.01127	0.01897	0.00956										
Gp_10	1.18136	0.09208	0.06386	0.04786	0.11483	0.09690	0.02824	0.03409	0.02357	0.02541									
Gp_11	1.21543	0.07901	0.04973	0.03391	0.10155	0.08357	0.01876	0.02705	0.01501	0.01651	0.02413								
Gp_9	1.21086	0.08986	0.06239	0.04562	0.11269	0.09510	0.02471	0.03232	0.02013	0.02153	0.01368	0.01987							
Gp_5	1.21246	0.08492	0.05635	0.04001	0.10752	0.09011	0.01895	0.02729	0.01522	0.01658	0.02235	0.01435	0.01812						
Gp_6	1.19052	0.08227	0.05454	0.03919	0.10572	0.08712	0.01871	0.02752	0.01463	0.01632	0.01540	0.01430	0.01088	0.01237					
Gp_8	1.20348	0.08547	0.05877	0.04134	0.10811	0.09019	0.02009	0.02948	0.01559	0.01703	0.01458	0.01540	0.01039	0.01372	0.00639				
Gp_15	1.26417	0.06196	0.03416	0.04054	0.08662	0.06692	0.05745	0.06406	0.05328	0.05563	0.06149	0.04830	0.05948	0.05412	0.05259	0.05545			
Gp_14	1.19474	0.05480	0.02658	0.02128	0.07745	0.05941	0.03769	0.04107	0.03336	0.03535	0.04180	0.02775	0.03968	0.03415	0.03327	0.03558	0.02504		
Gp_12	1.24031	0.08897	0.05828	0.03778	0.10800	0.09180	0.03742	0.04174	0.03395	0.03512	0.03965	0.02722	0.03649	0.03234	0.03221	0.03412	0.05448	0.03430	

Análisis la distancia genética involucro 154 secuencias que cuales fueron categorizadas en grupos para su posterior evaluación usando el modelo de Kimura de 2 parámetros modelado con distribución gamma en MEGA 11. Valores 0 – 0.05 distancia baja(estrechamente relacionadas), 0.05 – 0.2 distancia moderada (relativamente relacionadas), 0.2-1.0 distancia alta (distantemente relacionadas), y >1.0 distancia muy alta (altamente divergentes) (Kimura, 1980; Nei y Kumar, 2000; Tamura *et al.*, 2021; Van De Peer y Salemi, 2009).

Realizando la evaluación del árbol de MCC para el segmento HA y NA se observó que las cepas H7N3 emergieron en México a partir del año 2006 con la aparición de la cepa A/cinnamon teal/Mexico/2817/2006(H7N3) (Cuevas-Domínguez *et al.*, 2009), y que reemergió en el territorio nacional hasta el año de 2012 donde la cepa aislada en Jalisco A/chicken/Jalisco/CPA1/2012(H7N3), fue la promotora de la circulación del subtipo H7N3 en México (Anexo VI y VII) (Wainwright *et al.*, 2012; Heneidi-Zeckua, 2018; SENASICA, 2024), sin embargo, se observa que

en un período intermedio entre 2006 a 2012 el subtipo N3 tuvo episodios de deriva antigénica con subtipos circulantes en poblaciones de aves silvestres de Norteamérica, lo que llevo a la identificación de las cepa A/green winged teal/Mexico-Sonora/701/2008(H11N3) y A/green winged teal/Mexico-Sonora/1132/2009(H10N3) las cuales se encuentran estrechamente relacionadas con cepas aisladas en México en años posteriores, con base a sus valores de distancia genética 0.0824 y 0.0897 respectivamente (Awise, 1994; Nei, 1987) que presentan con relación a la cepa A/chicken/Estado-de-Mexico/09-06/2009, un aislado previo al identificado en Jalisco en 2012 (Anexo VI y VII) marcando que el linaje H7N3 mexicano estuvo circulando previo a los brotes del 2012 en poblaciones de aves domésticas y que dicho linaje tuvo su origen a partir de virus circulantes en poblaciones de aves acuáticas del Oeste de EE.UU. (Anexo VI y VII), lo cual coincide con lo descrito con Lopez-Martinez *et al.* (2013), Lu *et al.* (2014a), Youk *et al.* (2019), y Trovão *et al.* (2020) quienes establecieron que los virus circulantes en México tienen su origen de subtipos de influenza de aves silvestres de los EE.UU.

7.2.3. Difusión geográfica

Al realizar la evaluación filogeográfica del segmento HA (Figura 20) se observa que el origen de la circulación del linaje H7N3 de México deriva de virus provenientes de Canadá (Columbia Británica) aislados durante 2004, lo cual está soportado con un valor $BF_{10}=5.33$ (Dittrich *et al.*, 2020) (Anexo VIII), y coincide con lo descrito por Wainwright *et al.* (2012), Abdelwhab *et al.* (2013), y Trovão *et al.* (2020) quienes describen que los virus H7N3 de Norteamérica emergieron en Canadá durante el 2004. No obstante, la recirculación del H7 en aves domésticas de México partió de poblaciones de aves silvestres de EE.UU. provenientes de California ($BF_{10}=5.33$), Dakota del Norte ($BF_{10}=5.33$), y Missouri ($BF_{10}=5.33$) (Anexo VIII), lo cual difiere con el hallazgo de (Lu *et al.*, 2014a) quienes determinaron que el origen del H7N3 fue de Nebraska, Illinois, Missouri, y Mississippi; esta diferencia geográfica puede deberse a que en el análisis realizado para el origen evolutivo del

virus fue con base a la cepa aislada en Jalisco durante 2012, y en el presente estudio se contempló la cepa aislada en 2006 (Estado de México) como cepas posteriores al 2009.

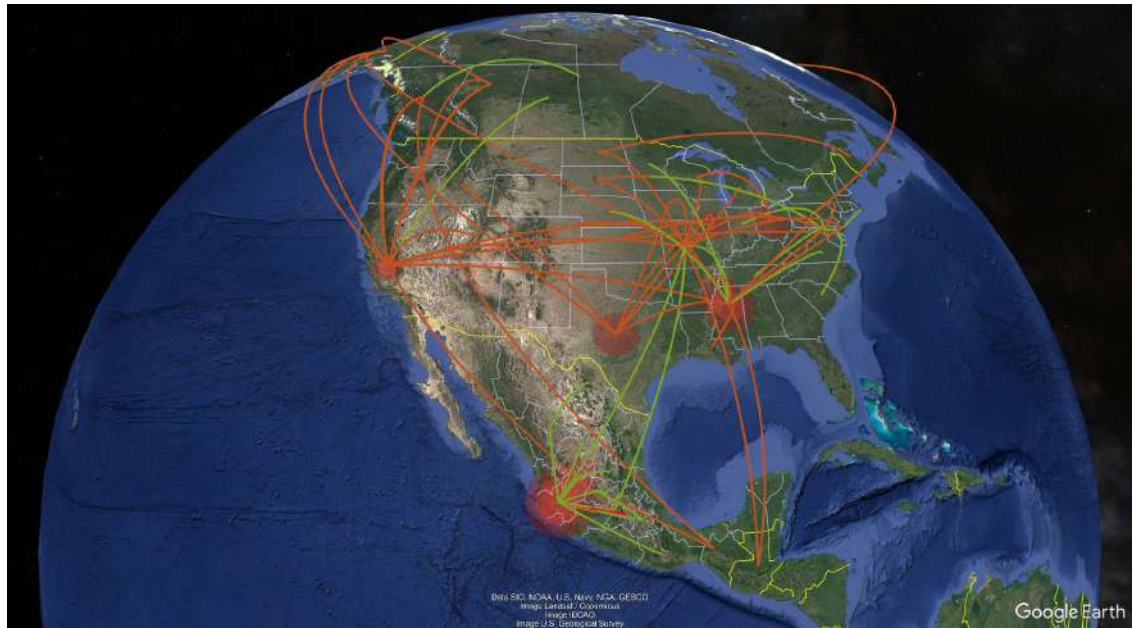


Figura 20. Difusión geográfica de segmento HA del virus H7N3 de México¹¹.

En relación a la red de transmisión del segmento entre hospedantes (Figura 21), similar al hallazgo en los virus H5NX se determinó que la difusión del segmento HA en el subtipo H7N3 de México se debió inicialmente por especies de Anseriformes silvestres sustentado con un valor muy fuerte de $BF_{10}=4.16$ las cuales también promovieron la dispersión del H7 entre poblaciones de Charadriiformes. Sin embargo, también se observó una evidencia substancial para inferir que las poblaciones de Galliformes domésticas son las que han promovido el salto hacia aves silvestres ($BF_{10}=2.27$) como hacia mamíferos ($BF_{10}=1.60$).

La dirección de difusión del subtipo H7 hacia mamíferos se debe tener en consideración en las cepas H7NX debido a que estos virus han mostrado una

¹¹ El esquema de difusión espacio-temporal se estandarizó por colorimetría: naranja representa la difusión por aves silvestres, verde por aves domésticas (pollos, pavos, patos y gansos), y rojo por mamíferos.

facilidad en la capacidad de transmisión, y de causar infecciones en diversas especies de mamíferos (Trovão *et al.*, 2020). Como también se observó en la difusión geográfica del subtipo H5, las aves silvestres desempeñan su rol ecológico en la expansión geográfica, y no a un nivel regional (Hill *et al.*, 2022).

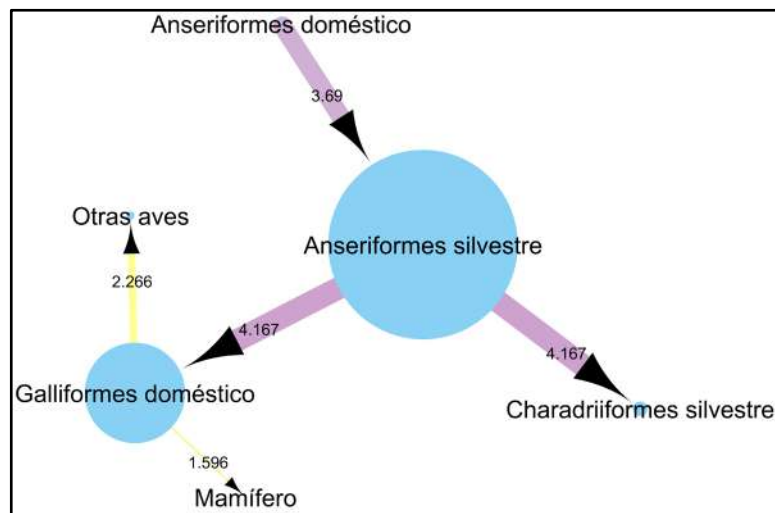


Figura 21. Red de inferencia de transmisión del hospedantes para HA de H7N3¹².

El subtipo N3 del linaje mexicano (Figura 22) al igual que H7 tuvo su origen de virus canadienses (Alberta) circulantes durante 2003, aisladas soportado con un valor $BF_{10}=4.25$ (Dittrich *et al.*, 2020) (Anexo VIII). No obstante, la recirculación de N3 en aves domésticas de México partió de poblaciones de aves silvestres de EE.UU. provenientes de Wisconsin ($BF_{10}=2.57$) (Anexo VIII), a diferencia de H7 esta evidencia estadística fue similar a lo planteado por (Lu *et al.*, 2014a) quien estableció que las regiones donadoras del virus H7N3 en EE.UU. pudieron ser Alaska, California, Illinois, Missouri, Ohio, y Wisconsin.

También se observó, el salto aislado de cepas H7N3 hacia Sudamérica (Chile) lo cual promovió la formación del clado sudamericano, las cuales tienen un origen evolutivo a partir de poblaciones de aves silvestres provenientes de

¹² La red de inferencia se estandarizó con las flechas que indican la dirección de la diseminación, un valor numérico de la tasa del BF_{10} , un nodo proporcional al número de cepas aisladas. La línea amarilla soporte $BF_{10} < 2.3$ (substantial), verde > 2.4 $BF_{10} < 3.4$ (fuerte), y lila > 3.4 $BF_{10} < 4.61$ (muy fuerte) (Dittrich *et al.*, 2020)

Data SIG-RUCKA U.S. Navy, NSA, DERCQ
Integr. Lantnet / Comnet
Integr. RUCKA
Integr. U.S. Strategic Survey

Y finalmente, el flujo del gen HA entre hospedantes (Figura 23), similar a la de subtipo H7 se obtuvo que fueron las especies de Anseriformes silvestres promovieron la donación del gen hacia aves domésticas ($BF_{10}=4.007$), no e, nuevamente se observó una evidencia substancial para inferir que son las domésticas las donadoras del virus hacia los mamíferos, esclareciendo el a desempeñar con el virus debido a su propenso potencial zoonótico (Trovão 020).

80

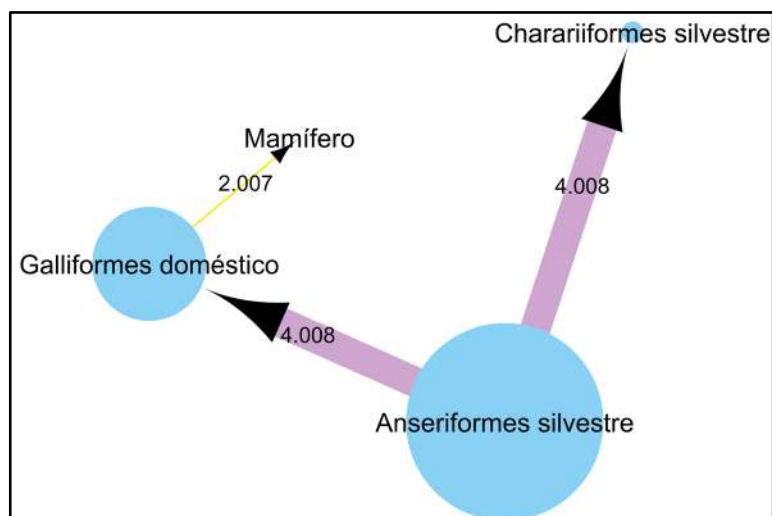


Figura 23. Red de inferencia de transmisión del hospedantes para NA de H7N3¹⁴.

Con base al análisis comparativo entre segmentos de las proteínas NA y HA de las cepas H5N2 y H7N3 que se encuentran circulando en diversas regiones de la República Mexicana, se ha podido comprobar que el rol ecológico de las poblaciones de aves silvestres en la transmisión del virus de influenza es participar en una difusión inter e intracontinental (Figura 24A y 25A), a diferencia de las poblaciones domésticas quienes son las que van a propiciar una difusión regional influenciada por diversos factores tanto la movilización de las aves, patrones migratorios, y en el caso particular de México se observa que la difusión de los segmentos se centra principalmente en los estados de la región occidente-Bajío y centro del país (Figura 24B y 25B), donde la exposición continua a las vacunas, que si bien son una herramienta esencial para mitigar los efectos de la enfermedad en la producción avícola, pudiera ser el principal factor en promover la deriva antigénica del virus, que para el caso particular de los virus H5N2 ha tendido como efecto la formación de múltiples subclados debido a su circulación que inició en 1994, y para el virus H7N3 una marcada deriva antigénica que ha causado diversas oleadas

¹⁴ La red de inferencia se estandarizó con las flechas que indican la dirección de la diseminación, un valor numérico de la tasa del BF_{10} , un nodo proporcional al número de cepas aisladas. La línea amarilla soporte $BF_{10} < 2.3$ (substantial), verde > 2.4 $BF_{10} < 3.4$ (fuerte), y lila > 3.4 $BF_{10} < 4.61$ (muy fuerte) (Dittrich *et al.*, 2020)

desde 2019 hasta principios de 2025 cuando se notificó el último brote (WOAH y WAHIS, 2023).

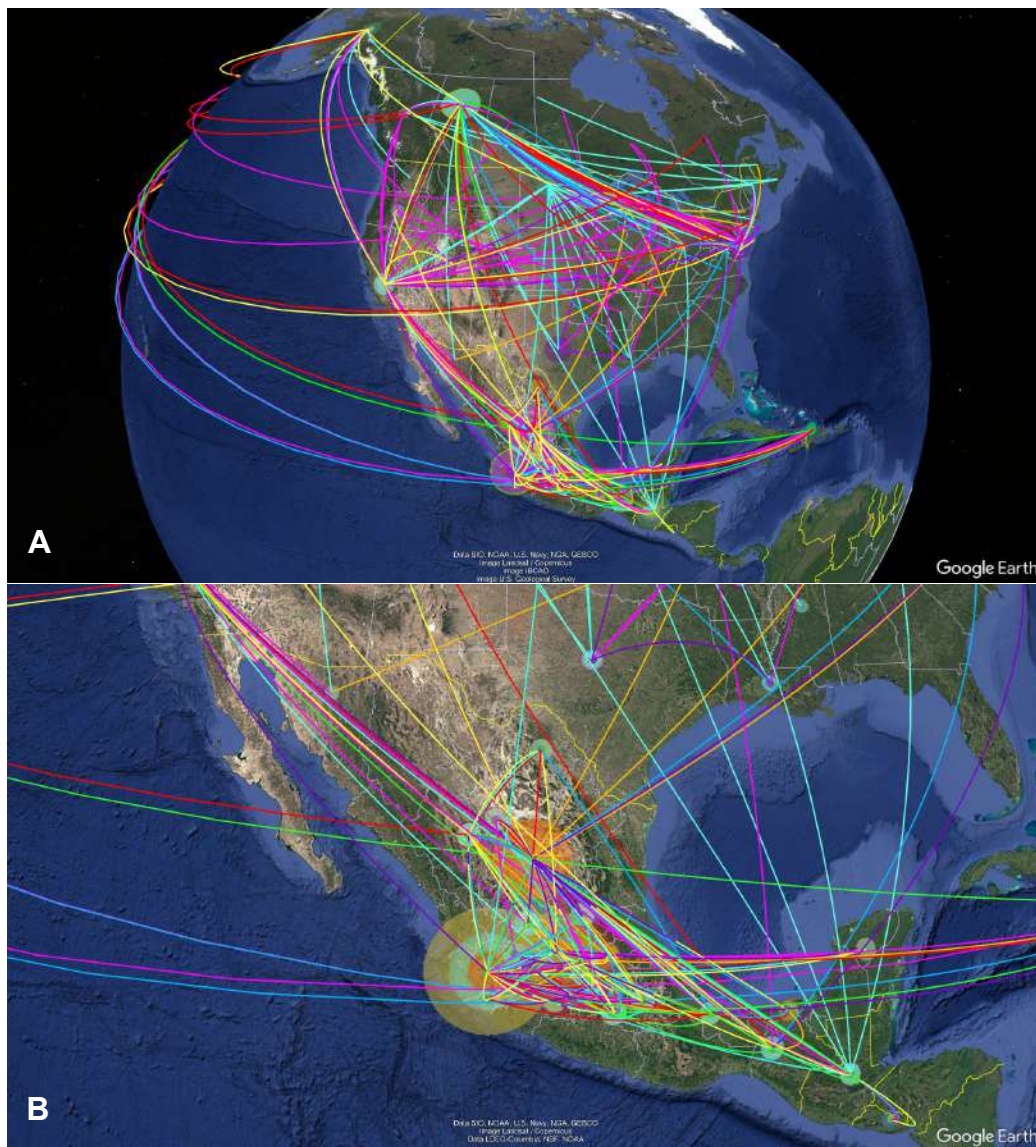


Figura 24. Difusión geo-espacial de los segmentos genómicos del virus H5N2 en las Américas. En el panel A se visualiza que el flujo de los segmentos hacia proviene principalmente de provincias en la región oeste de Canadá, y de estados en la región noroeste central y noreste de los EE.UU. En cambio, en el panel B se aprecia que la difusión de los segmentos genómicos del virus se concentra en la región central y occidente-Bajío de México, denotando que la dispersión intercontinental fue promovida por poblaciones aviarias en los estados de Durango (MP), Puebla (HA), Veracruz (HA, y NA), y regiones no específicas catalogadas como México (NP). El flujo de cada segmento fue configurado por colorimetría con morado el segmento PB1, aguamarina PB2, naranja PA, fucsia HA, verde claro NP, azul claro NA, rojo MP y amarillo NS (Creado con Google Earth Pro).

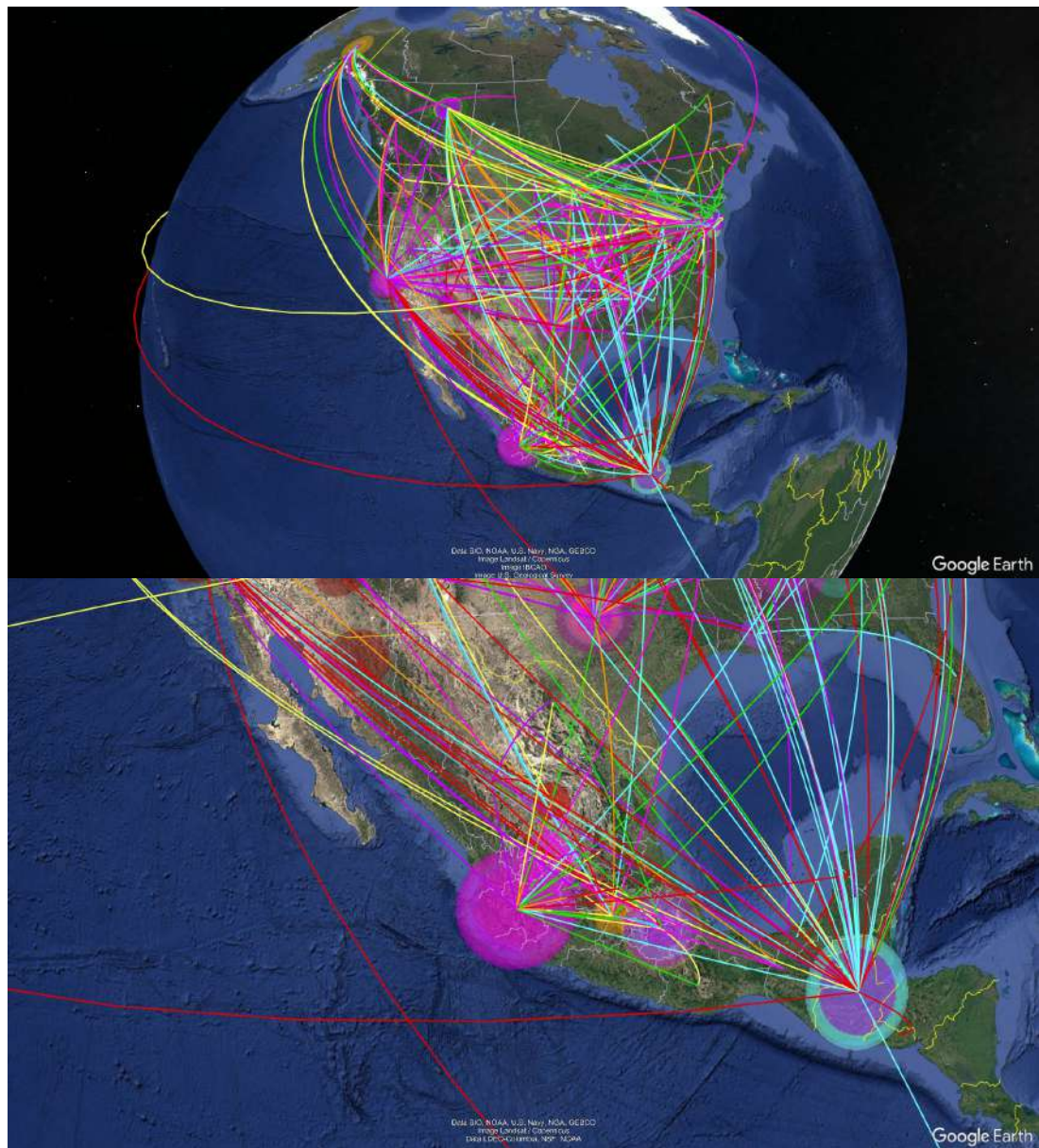


Figura 25. Difusión geo-espacial de los segmentos genómicos del virus H7N3 en las Américas. En el panel A se visualiza que el flujo de los segmentos proviene de la provincia de Alberta, Canadá, y de estados en la región noroeste central y noreste de los EE.UU. En cambio, en el panel B se aprecia que la difusión se concentra en la región occidente-Bajío de México, principalmente por poblaciones aviarias del estado de Jalisco. Los casos aislados de difusión inter- e intracontinental se dio por poblaciones aviarias en los estados de la región noreste de EE.UU. hacia Asia (NP) y Europa del Norte (HA), y de la región oeste de EE.UU. hacia Sudamérica (MP), con la participación de región de las tierras bajas Mayas de Centroamérica (PB1, y NA). El flujo de cada segmento fue configurado por colorimetría con morado el segmento PB2, aguamarina PB1, naranja PA, fucsia HA, verde claro NP, azul claro NA, rojo MP y amarillo NS (Creado con Google Earth Pro).

Por otro lado, un monitoreo sustancial a la determinación de marcadores asociados a la patogenicidad específicos de cada cepa deben ser considerados, ya que el flujo de los genes de las cepas H5N2 y H7N3 hacia mamíferos parte originalmente de las aves domésticas en lugar de aves silvestres, y para el caso particular del subtipo H7 este monitoreo es necesario ya que las cepas evaluadas contaron diversos marcadores asociados con promover infecciones en mamíferos, una característica que parece ser características de los virus H7NX, y en el caso de los virus H5N2 la continua circulación de diferentes patotipos puede promover la generación de nuevas variantes a partir de los reordenamientos genómicos.

VIII. CONCLUSIÓN

Con base en la evaluación exhaustiva de cada uno de los segmentos genómicos de los virus H5N2 y H7N3 en comparación con virus actuales de aves silvestres, se puede concluir los aislados de aves domésticas disponen de marcadores específicos asociados con adaptación específica hacia hospedantes domésticos, y en incrementar su patogenicidad, como también contar con diversas sustituciones potenciales claves en promover la transmisión interespecie a través de cambios en la capacidad y afinidad de replicación del virus mamíferos. Y por otro lado, el origen evolutivo de los virus si partió de poblaciones silvestres debido a que estas son sus hospedantes naturales, sin embargo, han sido factores relacionados con la producción avícola los que han favorecido la persistencia del virus en dichas poblaciones y en su distribución a un nivel regional ocasionando que llegue a ser categorizado como un agente endémico; al ser donadores de segmentos genómicos para dar origen a virus que han causado brotes en mamíferos, y promover el evento epidemiológico de spill-back hacia aves silvestres.

IX. BIBLIOGRAFÍA

Abdelwhab, E. M., y Abdel-Moneim, A. S. (2019). Orthomyxoviruses. En *Malik, Y., Singh, R. y Yadav, M., Recent advances in animal virology* (pp. 351–378). Springer.

Abdelwhab, E. M., y Mettenleiter, T. C. (2023). Zoonotic Animal Influenza Virus and Potential Mixing Vessel Hosts. *Viruses*, 15(4), 980–1017.

Abdelwhab, E.-S. M., Veits, J., y Mettenleiter, T. C. (2013). Genetic changes that accompanied shifts of low pathogenic avian influenza viruses toward higher pathogenicity in poultry. *Virulence*, 4(6), 441–452.

AbuBakar, U., Amrani, L., Kamarulzaman, F. A., Karsani, S. A., Hassandarvish, P., y Khairat, J. E. (2023). Avian influenza virus tropism in humans. *Viruses*, 15(833), 1–27.

Adlhoch, C., y Baldinelli, F. (2023). Avian influenza, new aspects of an old threat. *Euro Surveill.*, 28(19), 2300227.

Afanador-Villamizar, A., Gomez-Romero, C., Diaz, A., y Ruiz-Saenz, J. (2017). Avian influenza in Latin America: A systematic review of serological and molecular studies from 2000-2015. *One*, 12(6), e9573–e9594.

Alcazar, C. J., Guillén, A. M., y Del Rio, V. C. (2024). Avance IA - Influenza Aviar. *CPA-DINESA*, 2(1), 1–25.

Alexander, D. J. (2000). A review of avian influenza in different bird species. *Vet. Microbiol.*, 74(1–2), 3–13.

Aljabali, A. A., Hassan, S. S., Pabari, R. M., Shahcheraghi, S. H., Mishra, V., Charbe, N. B., Chellappan, D. K., Dureja, H., Gupta, G., Almutary, A. G., Alnuqaydan, A. M., Verma, S. K., Panda, P. K., Mishra, Y. K., Serrano-Aroca, Á., Dua, K., Uversky, V. N., Redwan, E. M., Bahar, B., Bhatia, A., Negi, P., Goyal, R., McCarron, P., Bakshi, H.A.,

y Tambuwala, M. M. (2021). The Viral Capsid As Novel Nanomaterials for Drug Delivery. *Future Sci. OA*, 7(9), 1–22.

Alkie, T. N., Cox, S., Embury-Hyatt, C., Stevens, B., Pople, N., Pybus, M. J., Xu, W., Hisanaga, T., Suderman, M., y Koziuk, J. (2023). Characterization of neurotropic HPAI H5N1 viruses with novel genome constellations and mammalian adaptive mutations in free-living mesocarnivores in Canada. *Emerg. Microbes Infect.*, 12(1), 2186608–2186622.

Amaro, R. E., leong, P. U., Huber, G., Dommer, A., Steven, A. C., Bush, R. M., Durrant, J. D., y Votapka, L. W. (2018). A computational assay that explores the hemagglutinin/neuraminidase functional balance reveals the neuraminidase secondary site as a novel anti-influenza target. *ACS Cent. Sci.*, 4(11), 1570–1577.

Antigua, K. J. C., Choi, W.-S., Baek, Y. H., y Song, M.-S. (2019). The emergence and decennary distribution of clade 2.3. 4.4 HPAI H5Nx. *Microorganisms*, 7(6), 156.

Aranda, A. J., Aguilar-Tipacamú, G., Perez, D. R., Bañuelos-Hernandez, B., Girgis, G., Hernandez-Velasco, X., Escorcia-Martinez, S. M., Castellanos-Huerta, I., y Petrone-Garcia, V. M. (2025). Emergence, migration and spreading of the high pathogenicity avian influenza virus H5NX of the Gs/Gd lineage into America. *J Gen Virol*, 106(4), 002081.

Araújo, A. C., Cho, A. Y., Silva, L. M. N., Corrêa, T. C., Souza, G. C., Albuquerque, A. S., Macagnan, E., Kolesnikvoas, C. K., Meurer, R., Vieira, J. V., Lemos, G. G., Barreto, A. S., Dick, J. L., Groch, K. R., Castilho, P. V., Amgarten, D., Malta, F., Miller, M., Dorlass, E. G., Palameta, S., Lee, S.-H., Ams, C.W., Durigon, E.L., Pinho, J.R.R., Lee, D.-H., y Ferreira, H. L. (2023). Mortality in Sea Lions is associated with the introduction of the H5N1 clade 2.3. 4.4 b virus in Brazil, October 2023: Whole genome sequencing and phylogenetic analysis. *BMC Veterinary Research-Review*, 1–12.

Awise, J. C. (1994). Species Phylogenies and Macroevolution. En J. C. Awise (Ed.), *Molecular Markers, Natural History and Evolution* (pp. 306–360). Springer US.

Ayala, A. J., Yabsley, M. J., y Hernandez, S. M. (2020). A review of pathogen transmission at the backyard chicken–wild bird interface. *Front. Vet. Sci.*, 7(539925), 1–15.

Bahl, J., Pham, T. T., Hill, N. J., Hussein, I. T., Ma, E. J., Easterday, B. C., Halpin, R. A., Stockwell, T. B., Wentworth, D. E., y Kayali, G. (2016). Ecosystem interactions underlie the spread of avian influenza A viruses with pandemic potential. *Pathogens*, 12(5), 1–20.

Baumann, J., Kouassi, N. M., Foni, E., Klenk, H.-D., y Matrosovich, M. (2016). H1N1 swine influenza viruses differ from avian precursors by a higher pH optimum of membrane fusion. *J. Virol.*, 90(3), 1569–1577.

Becker, W. (1966). The isolation and classification of tern virus: Influenza virus A/tern/South Africa/1961. *Epidemiol. Infect.*, 64(3), 309–320.

Bennison, A., Byrne, A. M., Reid, S. M., Lynton-Jenkins, J. G., Mollett, B., De Sliva, D., Peers-Dent, J., Finlayson, K. E., Hall, R., y Blockley, F. (2023). Detection and spread of high pathogenicity avian influenza virus H5N1 in the Antarctic Region. *bioRxiv*, 15(1), 7433.

Bevins, S. N., Shriner, S. A., Cumbee Jr, J. C., Dilione, K. E., Douglass, K. E., Ellis, J. W., Killian, M. L., Torchetti, M. K., y Lenocho, J. B. (2022). Intercontinental movement of highly pathogenic avian influenza A (H5N1) clade 2.3. 4.4 virus to the United States, 2021. *Emerg. Infect. Dis.*, 28(5), 1006–1011.

Bialy, D., y Shelton, H. (2020). Functional neuraminidase inhibitor resistance motifs in avian influenza A(H5Nx) viruses. *Antiviral Res.*, 182, 104886.

Bielejec, F., Rambaut, A., Suchard, M. A., y Lemey, P. (2011). SPREAD: Spatial phylogenetic reconstruction of evolutionary dynamics. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 27(20), 2910–2912.

Birdlife International. (2023). *Data Zone*. Birdlife International. Consultado el 04 de julio de 2023 en <http://datazone.birdlife.org/home>

Blagodatski, A., Trutneva, K., Glazova, O., Mityaeva, O., Shevkova, L., Kegeles, E., Onyanov, N., Fede, K., Maznina, A., y Khavina, E. (2021). Avian influenza in wild birds and poultry: Dissemination pathways, monitoring methods, and virus ecology. *Pathogens*, 10(630), 1–23.

Bodewes, R., y Kuiken, T. (2018). Changing role of wild birds in the epidemiology of avian influenza A viruses. En *Keillan M., Mettenleiter, T.C. y Roossinck, M.J., Advances in virus research* (pp. 279–307). Elsevier.

Bogs, J., Kalthoff, D., Veits, J., Pavlova, S., Schwemmle, M., Mänz, B., Mettenleiter, T. C., y Stech, J. (2011). Reversion of PB2-627E to-627K during replication of an H5N1 Clade 2.2 virus in mammalian hosts depends on the origin of the nucleoprotein. *J. Virol.*, 85(20), 10691–10698.

Boivin, S., Cusack, S., Ruigrok, R. W., y Hart, D. J. (2010). Influenza A virus polymerase: Structural insights into replication and host adaptation mechanisms. *J. Biol. Chem.*, 285(37), 28411–28417.

Bojórquez, E. A., Anaya, E. R., Espinosa, G. G., Vargas, D., y Loza-Rubio, E. (2015). Evaluation of a Polyvalent Vaccine Obtained From Divergent Low Pathogenic H5N2 Isolates of the Avian Influenza Virus in Mexico. *SM Vaccine Vaccin*, 1(2), 1010.

Boni, M. F., Zhou, Y., Taubenberger, J. K., y Holmes, E. C. (2008). Homologous recombination is very rare or absent in human influenza A virus. *J. Virol.*, 82(10), 4807–4811.

Bordes, L., Vreman, S., Heutink, R., Roose, M., Venema, S., Pritz-Verschuren, S. B. E., Rijks, J. M., Gonzales, J. L., Germeraad, E. A., Engelsma, M., y Beerens, N. (2023). Highly Pathogenic Avian Influenza H5N1 Virus Infections in Wild Red Foxes (*Vulpes vulpes*) Show Neurotropism and Adaptive Virus Mutations. *Microbiol. Spectr.*, 11(1), 1–13.

Bourret, V. (2018). Avian influenza viruses in pigs: An overview. *Vet. J.*, 239, 7–14.

Bouvier, N. M., y Palese, P. (2008). The biology of influenza viruses. *Vaccine*, 26, D49–D53.

Breen, M., Nogales, A., Baker, S. F., y Martínez-Sobrido, L. (2016). Replication-competent influenza A viruses expressing reporter genes. *Viruses*, 8(179), 1–28.

Brown, I. H., Abolnik, C., Garcia-Garcia, J., McCullough, S., Swayne, D. E., y Cattoli, G. (2017). High-pathogenicity avian influenza outbreaks since 2008, excluding multi-continental panzootic of H5 Goose/Guangdong-lineage viruses. En *Swayne, D.E., Animal influenza* (2nd ed., pp. 248–270). John Wiley y Sons.

Brunotte, L., Beer, M., Horie, M., y Schwemmler, M. (2016). Chiropteran influenza viruses: Flu from bats or a relic from the past? *Curr Opin Virol*, 16, 114–119.

Burke, D. F., y Smith, D. J. (2014). A recommended numbering scheme for influenza A HA subtypes. *one*, 9(11), 1–11.

BV-BRC. (2023). *Viruses*. Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center. Consultado el 04 de julio de 2023 en <https://www.bv-brc.org/>

Caliendo, V., Leijten, L., Begeman, L., Poen, M. J., Fouchier, R. A., Beerens, N., y Kuiken, T. (2020). Enterotropism of highly pathogenic avian influenza virus H5N8 from the 2016/2017 epidemic in some wild bird species. *Vet. Res.*, 51, 1–10.

Caliendo, V., Lewis, N., Pohlmann, A., Baillie, S., Banyard, A., Beer, M., Brown, I., Fouchier, R., Hansen, R., y Lameris, T. (2022). Transatlantic spread of highly pathogenic avian influenza H5N1 by wild birds from Europe to North America in 2021. *Sci. Rep.*, 12(1), 11729.

Carballal, G., y Oubiña, J. R. (2015). *Virología médica* (4a edición). Corpus.

Carnell, G. W., Ferrara, F., Grehan, K., Thompson, C. P., y Temperton, N. J. (2015). Pseudotype-Based Neutralization Assays for Influenza: A Systematic Analysis. *Frontiers in Immunology*, 6.

Caron, A., Cappelle, J., Cumming, G. S., de Garine-Wichatitsky, M., y Gaidet, N. (2015). Bridge hosts, a missing link for disease ecology in multi-host systems. *Vet. Res.*, 46(1), 1–11.

Castro-Sanguinetti, G., Gonzalez-Veliz, R., Callupe-Leyva, A., Apaza-Chiara, A., Jara, J., Silva, W., Icochea, E., y More-Bayona, J. (2023). Circulation of highly pathogenic avian influenza virus H5N1 clade 2.3. 4.4 b in highly diverse wild bird species from Peru. *Res Sq*, 1, 1–24.

Causey, D., y Edwards, S. V. (2008). Ecology of avian influenza virus in birds. *J. Infect. Dis.*, 197(S1), S29–S33.

Centers for Disease Control and Prevention. (2022). *Highlights in the History of Avian Influenza (Bird Flu) Timeline – 1880 – 1959*. Centers for Disease Control and Prevention - National Center for Immunization and Respiratory Diseases. Consultado el 16 de septiembre de 2023 en, <https://www.cdc.gov/flu/avianflu/timeline/avian-timeline-1880-1959.htm>

Cerda-Armijo, C., de León, M. B., Ruvalcaba-Ortega, I., Chablé-Santos, J., Canales-del-Castillo, R., Peñuelas-Urquides, K., Rivera-Morales, L. G., Menchaca-Rodríguez, G., Camacho-Moll, M. E., Contreras-Cordero, J. F., Guzmán-Velasco, A.,

y González-Rojas, J. I. (2020). High Prevalence of Avian Influenza Virus Among Wild Waterbirds and Land Birds of Mexico. *Avian Diseases*, 64(2), 135–142.

Charostad, J., Rukerd, M. R. Z., Mahmoudvand, S., Bashash, D., Hashemi, S. M. A., Nakhaie, M., y Zandi, K. (2023). A comprehensive review of highly pathogenic avian influenza (HPAI) H5N1: An imminent threat at doorstep. *Travel. Med. Infect. Dis.*, 55, 1–16.

Chauhan, R. P., y Gordon, M. L. (2022). An overview of influenza A virus genes, protein functions, and replication cycle highlighting important updates. *Virus Genes*, 58(4), 255–269.

Chen, K.-Y., Karuppusamy, J., O'Neill, M. B., Opuu, V., Bahin, M., Foulon, S., Ibanez, P., Quintana-Murci, L., Ozawa, T., y van der Werf, S. (2023). High-throughput droplet-based analysis of influenza A virus genetic reassortment by single-virus RNA sequencing. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 120(6), 1–12.

Chen, X., Li, C., Sun, H.-T., Ma, J., Qi, Y., y Qin, S.-Y. (2019). Prevalence of avian influenza viruses and their associated antibodies in wild birds in China: A systematic review and meta-analysis. *Microb. Pathog.*, 135(103613), 1–7.

Chung, D. H., Gomez, D. R., Vargas, J. M., Amador, B. L., Torchetti, M. K., Killian, M. L., Swayne, D. E., y Lee, D.-H. (2020). Low Pathogenicity Avian Influenza (H5N2) Viruses, Dominican Republic. *Emerging Infectious Diseases*, 26(12), 3094.

Ciminski, K., Pfaff, F., Beer, M., y Schwemmler, M. (2020). Bats reveal the true power of influenza A virus adaptability. *Pathogens*, 16(4), e1008384–e1008391.

Claes, F., Morzaria, S. P., y Donis, R. O. (2016). Emergence and dissemination of clade 2.3.4.4 H5Nx influenza viruses—How is the Asian HPAI H5 lineage maintained. *Curr. Opin. Virol.*, 16, 158–163.

Cobbin, J. C., Ong, C., Verity, E., Gilbertson, B. P., Rockman, S. P., y Brown, L. E. (2014). Influenza virus PB1 and neuraminidase gene segments can cosegregate during vaccine reassortment driven by interactions in the PB1 coding region. *J. Virol.*, 88(16), 8971–8980.

Collin, E. A., Sheng, Z., Lang, Y., Ma, W., Hause, B. M., y Li, F. (2015). Cocirculation of two distinct genetic and antigenic lineages of proposed influenza D virus in cattle. *J. Virol.*, 89(2), 1036–1042.

Colman, P. M., Hoyne, P. A., y Lawrence, M. C. (1993). Sequence and structure alignment of paramyxovirus hemagglutinin-neuraminidase with influenza virus neuraminidase. *Journal of Virology*, 67(6), 2972–2980.

Conenello, G. M., y Palese, P. (2007). Influenza A virus PB1-F2: A small protein with a big punch. *Cell Host Microbe*, 2(4), 207–209.

Conenello, G. M., Zamarin, D., Perrone, L. A., Tumpey, T., y Palese, P. (2007). A Single Mutation in the PB1-F2 of H5N1 (HK/97) and 1918 Influenza A Viruses Contributes to Increased Virulence. *Pathogens*, 3(10), e141.

Cox, N. J., Tock, S. C., y Uyeki, T. M. (2017). Public health implications of animal influenza viruses. En Swayne, D.E., *Animal influenza* (2nd ed., pp. 92–133). John Wiley y Sons.

Cuevas-Domínguez, E. A., González-Guzmán, S., Quintana-López, J. A., Loza-Rubio, E., González-Rebeles, C., y García-Espinosa, G. (2009). Detección de orthomyxovirus H7N3 en anátidos del Estado de México. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 10(4).

Cutlip, K. (2023, abril). *RESEARCH: Why This Bird Flu Is Different* [College of Agriculture and Natural Resources - University of Maryland]. Maryland Today - Office of Marketing and Communications - College of Agriculture and Natural Resources -

University of Maryland. Consultado el 24 de junio de 2023 en, <https://today.umd.edu/why-this-bird-flu-is-different#:~:text=The%20data%20show%20H5N1's%20progression,in%20the%20U.S.%20and%20Canada>

Dadonaite, B., Ahn, J. J., Ort, J. T., Yu, J., Furey, C., Dosey, A., Hannon, W. W., Baker, A. V., Webby, R. J., King, N. P., Liu, Y., Hensley, S. E., Peacock, T. P., Moncla, L. H., y Bloom, J. D. (2024). Deep mutational scanning of H5 hemagglutinin to inform influenza virus surveillance. *bioRxiv*, 2024.05.23.595634.

Daoust, P.-Y., Van De Bildt, M., Van Riel, D., Van Amerongen, G., Bestebroer, T., Vanderstichel, R., Fouchier, R. A. M., y Kuiken, T. (2013). Replication of 2 Subtypes of Low-Pathogenicity Avian Influenza Virus of Duck and Gull Origins in Experimentally Infected Mallard Ducks. *Vet. Pathol.*, 50(3), 548–559.

Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R., y Posada, D. (2012). jModelTest 2: More models, new heuristics and high-performance computing. *Nature methods*, 9(8), 772.

de Bruin, A. C., Funk, M., Spronken, M. I., Gultyaev, A. P., Fouchier, R. A., y Richard, M. (2022). Hemagglutinin subtype specificity and mechanisms of highly pathogenic avian influenza virus genesis. *Viruses*, 14(7), 1566–1595.

de Carvalho, L. M. F., Santos, L. B. L., Faria, N. R., y de Castro Silveira, W. (2013). Phylogeography of foot-and-mouth disease virus serotype O in Ecuador. *Infection, Genetics and Evolution*, 13, 76–88.

De Marco, M. A., Sharshov, K., Gulyaeva, M., Delogu, M., Ciccarese, L., Castrucci, M. R., y Shestopalov, A. (2016). Ecology of avian influenza viruses in Siberia. En *Robbins, T., Siberia: Ecology, Diversity and Environmental Impact* (pp. 83–160). Nova Science Publishers.

De Vries, R. P., Peng, W., Grant, O. C., Thompson, A. J., Zhu, X., Bouwman, K. M., de la Pena, A. T. T., van Breemen, M. J., Wickramasinghe, I. N. A., y de Haan, C. A. (2017). Three mutations switch H7N9 influenza to human-type receptor specificity. *pathogens*, 13(6), e1006390.

DesRochers, B. L., Chen, R. E., Gounder, A. P., Pinto, A. K., Bricker, T., Linton, C. N., Rogers, C. D., Williams, G. D., Webby, R. J., y Boon, A. C. M. (2016). Residues in the PB2 and PA genes contribute to the pathogenicity of avian H7N3 influenza A virus in DBA/2 mice. *Virology*, 494, 89–99.

Dittrich, D., Leenders, R. Th. A. J., y Mulder, J. (2020). Network Autocorrelation Modeling: Bayesian Techniques for Estimating and Testing Multiple Network Autocorrelations. *Sociological Methodology*, 50(1), 168–214.

Doms, R. W., White, J., Boulay, F., y Helenius, A. (2019). Influenza virus hemagglutinin and membrane fusion. En J. Wilschut y D. Hoekstra, *Membrane Fusion* (pp. 313–335). CRC Press.

Dou, D., Revol, R., Östbye, H., Wang, H., y Daniels, R. (2018). Influenza A virus cell entry, replication, virion assembly and movement. *Front Immunol*, 9(1581), 1–17.

Drummond, A. J., Ho, S. Y. W., Phillips, M. J., y Rambaut, A. (2006). Relaxed Phylogenetics and Dating with Confidence. *Biology*, 4(5), e88.

Drummond, A. J., y Rambaut, A. (2007). BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, 7(1), 214.

Du, R., Cui, Q., Chen, Z., Zhao, X., Lin, X., y Rong, L. (2023). Revisiting influenza A virus life cycle from a perspective of genome balance. *Virol. Sin.*, 38(1), 1–8.

Duckert, P., Brunak, S., y Blom, N. (2004). Prediction of proprotein convertase cleavage sites. *Protein Engineering, Design y Selection: PEDS*, 17(1), 107–112.

Dufour-Zavala, L., Swayne, D. E., Glisson, J. R., Pearson, J. E., Reed, W. M., Jackwood, M. W., y Woolcock, P. R. (2008). *A laboratory manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens* (5 th ed.). The American Association of Avian Pathologists.

Elbe, S., y Buckland-Merrett, G. (2017). Data, disease and diplomacy: GISAID's innovative contribution to global health. *Global Challenges*, 1(1), 33–46.

Erdelyan, C. N. G., Kandeil, A., Signore, A. V., Jones, M. E. B., Vogel, P., Andreev, K., Bøe, C. A., Gjerset, B., Alkie, T. N., Yason, C., Hisanaga, T., Sullivan, D., Lung, O., Bourque, L., Ayilara, I., Pama, L., Jeevan, T., Franks, J., Jones, J. C., ... Berhane, Y. (2024). Multiple transatlantic incursions of highly pathogenic avian influenza clade 2.3.4.4b A(H5N5) virus into North America and spillover to mammals. *Cell Reports*, 43(7), 114479.

Escorcia, M., Carrillo-Sánchez, K., March-Mifsut, S., Chapa, J., Lucio, E., y Nava, G. M. (2010). Impact of antigenic and genetic drift on the serologic surveillance of H5N2 avian influenza viruses. *BMC Veterinary Research*, 6, 57.

Escorcia, M., Vázquez, L., Méndez, S. T., Rodríguez-Ropón, A., Lucio, E., y Nava, G. M. (2008). Avian influenza: Genetic evolution under vaccination pressure. *Virology Journal*, 5, 15.

Essere, B., Yver, M., Gavazzi, C., Terrier, O., Isel, C., Fournier, E., Giroux, F., Textoris, J., Julien, T., y Socratous, C. (2013). Critical role of segment-specific packaging signals in genetic reassortment of influenza A viruses. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 110(40), E3840–E3848.

European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control, European Union Reference Laboratory for Avian Influenza, Adlhoch, C., Fusaro, A., Gonzales, J. L., Kuiken, T., Marangon, S., Mirinaviciute, G., Niqueux, É., Stahl, K., Staubach, C., Terregino, C., Broglia, A., y Baldinelli, F. (2023). Avian

influenza overview December 2022 – March 2023. *EFSA Journal*, 21(3), Article 3. Consultado el 26 de junio de 2023 en, <https://data.europa.eu/doi/10.2903/j.efsa.2023.7917>

European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control, European Union Reference Laboratory for Avian Influenza, Adlhoch, C., Fusaro, A., Gonzales, J. L., Kuiken, T., Mirinavičiūtė, G., Niqueux, É., y Ståhl, K. (2023). Avian influenza overview September–December 2023. *EFSA Journal*, 21(12), e8539.

Evseev, D., y Magor, K. E. (2019). Innate immune responses to avian influenza viruses in ducks and chickens. *Vet. Sci.*, 6(5), 1–37.

Fang, R., Min Jou, W., Huylebroeck, D., Devos, R., y Fiers, W. (1981). Complete structure of A/duck/Ukraine/63 influenza hemagglutinin gene: Animal virus as progenitor of human H3 Hong Kong 1968 influenza hemagglutinin. *Cell*, 25(2), 315–323.

Farahat, R. A., Khan, S. H., Rabaan, A. A., y Al-Tawfiq, J. A. (2023). The resurgence of Avian influenza and human infection: A brief outlook. *New Microbes New Infect.*, 53, 101122.

Faria, N. R., Suchard, M. A., Rambaut, A., y Lemey, P. (2011). Towards a quantitative understanding of viral phylogeography. *Current Opinion in Virology*, 1(5), 423–429.

Fereidouni, S., Starick, E., Karamendin, K., Genova, C. D., Scott, S. D., Khan, Y., Harder, T., y Kydyrmanov, A. (2023). Genetic characterization of a new candidate hemagglutinin subtype of influenza A viruses. *Emerg. Microbes Infect.*, 12(2225645), 1–9.

Fodor, E., y Te Velthuis, A. J. (2020). Structure and function of the influenza virus transcription and replication machinery. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, 10(9), 1–14.

Gamarra-Toledo, V., Plaza, P. I., Gutiérrez, R., Inga-Díaz, G., Saravia-Guevara, P., Pereyra-Meza, O., Coronado-Flores, E., Calderón-Cerrón, A., Quiroz-Jiménez, G., y Martínez, P. (2023). Mass mortality of marine mammals associated to highly pathogenic influenza virus (H5N1) in South America. *Cold Spring Harb. Perspect. Lab.*, 02(08), 1–12.

García, M., Crawford, J. M., Latimer, J. W., Rivera-Cruz, E., y Perdue, M. L. (1996). Heterogeneity in the haemagglutinin gene and emergence of the highly pathogenic phenotype among recent H5N2 avian influenza viruses from Mexico. *Journal of General Virology*, 77(7), 1493–1504.

García, M., Suarez, D. L., Crawford, J. M., Latimer, J. W., Slemons, R. D., Swayne, D. E., y Perdue, M. L. (1997). Evolution of H5 subtype avian influenza A viruses in North America. *Virus Research*, 51(2), 115–124.

Gerber, M., Isel, C., Moules, V., y Marquet, R. (2014). Selective packaging of the influenza A genome and consequences for genetic reassortment. *Trends Microbiol.*, 22(8), 446–455.

Gilbert, M., Slingenbergh, J., y Xiao, X. (2008). Climate change and avian influenza. *Rev. Sci. Tech. - Off. Int. Epizoot.*, 27(2), 459–466.

Gill, M. S., Lemey, P., Faria, N. R., Rambaut, A., Shapiro, B., y Suchard, M. A. (2012). Improving Bayesian Population Dynamics Inference: A Coalescent-Based Model for Multiple Loci. *Molecular Biology and Evolution*, 30(3), 713.

Guindon, S., y Gascuel, O. (2003). A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology*, 52(5), 696–704.

Günther, A., Krone, O., Svansson, V., Pohlmann, A., King, J., Hallgrímsson, G. T., Skarphéðinsson, K. H., Sigurðardóttir, H., Jónsson, S. R., y Beer, M. (2022). Iceland as Stepping Stone for Spread of Highly Pathogenic Avian Influenza Virus between Europe and North America. *Emerg. Infect. Dis.*, 28(12), 2383–2388.

Han, X., Bertzbach, L. D., y Veit, M. (2019). Mimicking the passage of avian influenza viruses through the gastrointestinal tract of chickens. *Vet. Microbiol.*, 239, 108462.

Harvey, J. A., Mullinax, J. M., Runge, M. C., y Prosser, D. J. (2023). The changing dynamics of highly pathogenic avian influenza H5N1: Next steps for management y science in North America. *Biol. Conserv.*, 282, 1–11.

Hatta, M., Goto, H., y Kawaoka, Y. (2004). Influenza B virus requires BM2 protein for replication. *Journal of virology*, 78(11), 5576–5583.

Hatta, M., y Kawaoka, Y. (2003). The NB protein of influenza B virus is not necessary for virus replication in vitro. *J. Virol.*, 77(10), 6050–6054.

Hautefeuille, C., Dauphin, G., y Peyre, M. (2020). Knowledge and remaining gaps on the role of animal and human movements in the poultry production and trade networks in the global spread of avian influenza viruses—A scoping review. *one*, 15(3), 0567–0588.

He, D., Gu, J., Gu, M., Wu, H., Li, J., Zhan, T., Chen, Y., Xu, N., Ge, Z., y Wang, G. (2021). Genetic and antigenic diversity of H7N9 highly pathogenic avian influenza virus in China. *Infect. Genet. Evol.*, 93(104993), 1–10.

Heneidi-Zeckua, A. (2018). *INFLUENZA AVIAR: EXPERIENCIAS EN MÉXICO Y FACTORES DE RIESGOS IDENTIFICADOS* [Gobierno de México]. Comité Nacional para la Vigilancia Epidemiológica. Consultado de 27 de mayo de 2025 en, https://www.conave.org/wp-content/uploads/2018/11/Assad-Heneidi-Influenza-aviar_experiencias-en-Mexico-y-factores-de-riesgo-identificados.pdf

Hill, N. J., Bishop, M. A., Trovão, N. S., Ineson, K. M., Schaefer, A. L., Puryear, W. B., Zhou, K., Foss, A. D., Clark, D. E., y MacKenzie, K. G. (2022). Ecological divergence of wild birds drives avian influenza spillover and global spread. *Pathog.*, 18(5), 1–25.

Hill, S. C., Manvell, R. J., Schulenburg, B., Shell, W., Wikramaratna, P. S., Perrins, C., Sheldon, B. C., Brown, I. H., y Pybus, O. G. (2016). Antibody responses to avian influenza viruses in wild birds broaden with age. *Proc. R. Soc. B: Biol. Sci.*, 283(20162159), 1–9.

Hill, V., y Baele, G. (2019). Bayesian Estimation of Past Population Dynamics in BEAST 1.10 Using the Skygrid Coalescent Model. *Molecular Biology and Evolution*, 36(11), 2620–2628.

Hoffmann, E., Stech, J., Guan, Y., Webster, R., y Perez, D. (2001). Universal primer set for the full-length amplification of all influenza A viruses. *Arch. Virol.*, 146, 2275–2289.

Horimoto, T., Rivera, E., Pearson, J., Senne, D., Krauss, S., Kawaoka, Y., y Webster, R. G. (1995). Origin and Molecular Changes Associated with Emergence of a Highly Pathogenic H5N2 Influenza Virus in Mexico. *Virology*, 213(1), 223–230.

Hurt, A. C., Vijaykrishna, D., Butler, J., Baas, C., Maurer-Stroh, S., Silva-de-la-Fuente, M. C., Medina-Vogel, G., Olsen, B., Kelso, A., y Barr, I. G. (2014). Detection of evolutionarily distinct avian influenza A viruses in Antarctica. *mBio*, 5(3), 1–10.

Hutchinson, E. C., von Kirchbach, J. C., Gog, J. R., y Digard, P. (2010). Genome packaging in influenza A virus. *J. Gen. Virol.*, 91(2), 313–328.

Imai, M., Watanabe, T., Hatta, M., Das, S. C., Ozawa, M., Shinya, K., Zhong, G., Hanson, A., Katsura, H., Watanabe, S., Li, C., Kawakami, E., Yamada, S., Kiso, M., Suzuki, Y., Maher, E. A., Neumann, G., y Kawaoka, Y. (2012). Experimental

adaptation of an influenza H5 HA confers respiratory droplet transmission to a reassortant H5 HA/H1N1 virus in ferrets. *Nature*, 486(7403), 420–428.

Ip, H. S., Torchetti, M. K., Crespo, R., Kohrs, P., DeBruyn, P., Mansfield, K. G., Baszler, T., Badcoe, L., Bodenstein, B., y Shearn-Bochsler, V. (2015). Novel Eurasian highly pathogenic avian influenza A H5 viruses in wild birds, Washington, USA, 2014. *Emerg. Infect. Dis.*, 21(5), 886–890.

Isel, C., Munier, S., y Naffakh, N. (2016). Experimental approaches to study genome packaging of influenza A viruses. *Viruses*, 8(218), 1–15.

Jang, Y. H., y Seong, B. L. (2019). The quest for a truly universal influenza vaccine. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 9(344), 1–24.

Kainer, D., y Lanfear, R. (2015). The Effects of Partitioning on Phylogenetic Inference. *Molecular Biology and Evolution*, 32(6), 1611–1627.

Kaleta, E. F., y Rülke, C. P. A. (2008). The Beginning and Spread of Fowl Plague (H7 High Pathogenicity Avian Infl uenza) Across Europe and Asia (1878–1955). En *Swayne, D.E., Avian influenza* (1st ed, pp. 145–189). Blackwall.

Kamal, R. P., Alymova, I. V., y York, I. A. (2017). Evolution and Virulence of Influenza A Virus Protein PB1-F2. *Int J Mol Sci*, 19(1), 96.

Karamendin, K., Kydyrmanov, A., y Fereidouni, S. (2024). Has avian influenza virus H9 originated from a bat source? *Front. Vet. Sci.*, 10(1332886), 1–6.

Kilpatrick, A. M., Chmura, A. A., Gibbons, D. W., Fleischer, R. C., Marra, P. P., y Daszak, P. (2006). Predicting the global spread of H5N1 avian influenza. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 103(51), 19368–19373.

Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16(2), 111–120.

Koutsakos, M., Kedzierska, K., y Subbarao, K. (2019). Immune responses to avian influenza viruses. *J. Immunol.*, 202(2), 382–391.

Koutsakos, M., Nguyen, T. H., Barclay, W. S., y Kedzierska, K. (2016). Knowns and unknowns of influenza B viruses. *Future Microbiol.*, 11(1), 119–135.

Krogh, A. (1997). Two methods for improving performance of an HMM and their application for gene finding. En T. Gaasterland, P. Karp, K. Karplus, C. Ouzounis, C. Sander, A. Valencia, y M. Park (Eds.), *Proc Fifth IntConf Intelligent Systems for Molecular Biology* (pp. 179–186). CA: AAAI Press.

Kuchipudi, S. V., Tellabati, M., Sebastian, S., Londt, B. Z., Jansen, C., Vervelde, L., Brookes, S. M., Brown, I. H., Dunham, S. P., y Chang, K.-C. (2014). Highly pathogenic avian influenza virus infection in chickens but not ducks is associated with elevated host immune and pro-inflammatory responses. *Vet. Res.*, 45(1), 118.

Laleye, A. T., y Abolnik, C. (2020). Emergence of highly pathogenic H5N2 and H7N1 influenza A viruses from low pathogenic precursors by serial passage in ovo. *ONE*, 15(10), e0240290.

Lamb, R. A. (2020). The Structure, Function, and Pathobiology of the Influenza A and B Virus Ion Channels. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, 10, 1–7.

Larsen, T. S., y Krogh, A. (2003). EasyGene—A prokaryotic gene finder that ranks ORFs by statistical significance. *BMC Bioinformatics*, 4, 21.

Lee, C.-C. D., Zhu, H., Huang, P.-Y., Peng, L., Chang, Y.-C., Yip, C.-H., Li, Y.-T., Cheung, C.-L., Compans, R., Yang, C., Smith, D. K., Lam, T. T.-Y., King, C.-C., y

Guan, Y. (2014). Emergence and Evolution of Avian H5N2 Influenza Viruses in Chickens in Taiwan. *Journal of Virology*, 88(10), 5677–5686.

Lee, C.-W., Senne, D. A., y Suarez, D. L. (2004). Effect of Vaccine Use in the Evolution of Mexican Lineage H5N2 Avian Influenza Virus. *Journal of Virology*, 78(15), 8372–8381.

Lee, C.-Y., An, S.-H., Choi, J.-G., Lee, Y.-J., Kim, J.-H., y Kwon, H.-J. (2020). Rank orders of mammalian pathogenicity-related PB2 mutations of avian influenza A viruses. *Sci. Rep.*, 10(1), 5359.

Lee, D.-H., Bertran, K., Kwon, J.-H., y Swayne, D. E. (2017). Evolution, global spread, and pathogenicity of highly pathogenic avian influenza H5Nx clade 2.3. 4.4. *J. Vet. Sci.*, 18(S1), 269–280.

Lee, D.-H., Criado, M. F., y Swayne, D. E. (2021). Pathobiological origins and evolutionary history of highly pathogenic avian influenza viruses. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, 11(2), a038679.

Lee, N., Le Sage, V., Nanni, A. V., Snyder, D. J., Cooper, V. S., y Lakdawala, S. S. (2017). Genome-wide analysis of influenza viral RNA and nucleoprotein association. *Nucleic Acids Res.*, 45(15), 8968–8977.

Lee, Y.-N., Lee, D.-H., Cheon, S.-H., Park, Y.-R., Baek, Y.-G., Si, Y.-J., Kye, S.-J., Lee, E.-K., Heo, G.-B., Bae, Y.-C., Lee, M.-H., y Lee, Y.-J. (2020a). Genetic characteristics and pathogenesis of H5 low pathogenic avian influenza viruses from wild birds and domestic ducks in South Korea. *Sci. Rep.*, 10, 12151.

Lee, Y.-N., Lee, D.-H., Cheon, S.-H., Park, Y.-R., Baek, Y.-G., Si, Y.-J., Kye, S.-J., Lee, E.-K., Heo, G.-B., Bae, Y.-C., Lee, M.-H., y Lee, Y.-J. (2020b). Genetic characteristics and pathogenesis of H5 low pathogenic avian influenza viruses from wild birds and domestic ducks in South Korea. *Scientific Reports*, 10(1), 12151.

Leguia, M., Garcia-Glaessner, A., Muñoz-Saavedra, B., Juarez, D., Barrera, P., Calvo-Mac, C., Jara, J., Silva, W., Ploog, K., Amaro, Lady, Colchao-Claux, P., Johnson, C. K., Uhart, M., Nelson, M. I., y Lescano, J. (2023). Highly pathogenic avian influenza A (H5N1) in marine mammals and seabirds in Peru. *Nat. Commun.*, 14(1), 5489.

Lemey, P., Rambaut, A., Drummond, A. J., y Suchard, M. A. (2009). Bayesian Phylogeography Finds Its Roots. *Computational Biology*, 5(9), e1000520.

Li, C., Hatta, M., Nidom, C. A., Muramoto, Y., Watanabe, S., Neumann, G., y Kawaoka, Y. (2010). Reassortment between avian H5N1 and human H3N2 influenza viruses creates hybrid viruses with substantial virulence. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 107(10), 4687–4692.

Li, J., zu Dohna, H., Cardona, C. J., Miller, J., y Carpenter, T. E. (2011). Emergence and Genetic Variation of Neuraminidase Stalk Deletions in Avian Influenza Viruses. *ONE*, 6(2), e14722.

Li, Q., Wang, X., Sun, Z., Hu, J., Gao, Z., Hao, X., Li, J., Liu, H., Wang, X., y Gu, M. (2015). Adaptive mutations in PB2 gene contribute to the high virulence of a natural reassortant H5N2 avian influenza virus in mice. *Virus Res.*, 210, 255–263.

Li, R., Gao, J., Wang, L., Gui, M., y Xiang, Y. (2024). Multivalent interactions between fully glycosylated influenza virus hemagglutinins mediated by glycans at distinct N-glycosylation sites. *Npj Viruses*, 2(1), 1–12.

Li, X., Gu, M., Zheng, Q., Gao, R., y Liu, X. (2021). Packaging signal of influenza A virus. *Viol. J.*, 18(1), 1–10.

Li, Y.-T., Ko, H.-Y., Lee, C.-C. D., Lai, C.-Y., Kao, C.-L., Yang, C., Wang, W.-B., y King, C.-C. (2015). Phenotypic and Genetic Characterization of Avian Influenza

H5N2 Viruses with Intra- and Inter-Duck Variations in Taiwan. *ONE*, 10(8), e0133910.

Liang, Y., Hong, Y., y Parslow, T. G. (2005). Cis-Acting packaging signals in the influenza virus PB1, PB2, and PA genomic RNA segments. *J. Virol.*, 79(16), 10348–10355.

Long, J. S., Mistry, B., Haslam, S. M., y Barclay, W. S. (2019). Host and viral determinants of influenza A virus species specificity. *Nat. Rev. Microbiol.*, 17(2), 67–81.

Lopez-Martinez, I., Balish, A., Barrera-Badillo, G., Jones, J., Nuñez-García, T. E., Jang, Y., Aparicio-Antonio, R., Azziz-Baumgartner, E., Belser, J. A., Ramirez-Gonzalez, J. E., Pedersen, J. C., Ortiz-Alcantara, J., Gonzalez-Duran, E., Shu, B., Emery, S. L., Poh, M. K., Reyes-Teran, G., Vazquez-Perez, J. A., Avila-Rios, S., Uyeki, T., Lindstrom, S., Villanueva, J., Tokars, J., Ruiz-Matus, C., Gonzalez-Roldan, J.F., Schmitt, B., Klimov, A., Cox, N., Kuri-Morales, P., Davis, C.T., y Diaz-Quinonez, J. A. (2013). Highly Pathogenic Avian Influenza A(H7N3) Virus in Poultry Workers, Mexico, 2012. *Emerging Infectious Diseases*, 19(9), 1531.

Lu, L., Lycett, S. J., y Leigh Brown, A. J. (2014a). Determining the Phylogenetic and Phylogeographic Origin of Highly Pathogenic Avian Influenza (H7N3) in Mexico. *ONE*, 9(9), e107330–e107343.

Lu, L., Lycett, S. J., y Leigh Brown, A. J. (2014b). Reassortment patterns of avian influenza virus internal segments among different subtypes. *BMC Evol. Biol.*, 14, 1–15.

Luczo, J. M., y Spackman, E. (2025). Molecular Evolution of the H5 and H7 Highly Pathogenic Avian Influenza Virus Haemagglutinin Cleavage Site Motif. *Reviews in Medical Virology*, 35(1), e70012.

Lupiani, B., y Reddy, S. M. (2009). The history of avian influenza. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 32(4), 311–323.

Lycett, S. J., Duchatel, F., y Digard, P. (2019). A brief history of bird flu. *Philos. Trans. R. Soc. B*, 374(1775), 20180257–20180272.

Mair, C. M., Ludwig, K., Herrmann, A., y Sieben, C. (2014). Receptor binding and pH stability—How influenza A virus hemagglutinin affects host-specific virus infection. *Biochim. Biophys. Acta - Biomem*, 1838(4), 1153–1168.

Mänz, B., Schwemmle, M., y Brunotte, L. (2013). Adaptation of avian influenza A virus polymerase in mammals to overcome the host species barrier. *J. Virol.*, 87(13), 7200–7209.

Marandino, A., Tomás, G., Panzera, Y., Leizagoyen, C., Pérez, R., Bassetti, L., Negro, R., Rodríguez, S., y Pérez, R. (2023). Spreading of the High-Pathogenicity Avian Influenza (H5N1) Virus of Clade 2.3. 4.4 b into Uruguay. *Viruses*, 15(9), 1906.

Mateus-Anzola, J., Gaytan-Cruz, L., Montoya-Carrillo, C., Ivan Sánchez-Betancourt, J., Zarza, H., Segura-Velázquez, R., y Ojeda-Flores, R. (2021). Molecular identification and phylogenetic characterization of influenza A virus at a wildlife-livestock interface in Mexico. *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(6), 3563–3573.

Matsuzaki, Y., Mizuta, K., Sugawara, K., Tsuchiya, E., Muraki, Y., Hongo, S., Suzuki, H., y Nishimura, H. (2003). Frequent reassortment among influenza C viruses. *J. Virol.*, 77(2), 871–881.

McDonald, S. M., Nelson, M. I., Turner, P. E., y Patton, J. T. (2016). Reassortment in segmented RNA viruses: Mechanisms and outcomes. *Nat. Rev. Microbiol.*, 14(7), 448–460.

McKellar, J., Rebendenne, A., Wencker, M., Moncorgé, O., y Goujon, C. (2021). Mammalian and avian host cell influenza A restriction factors. *Viruses*, 13(3), 522–560.

Meisner, J., Szretter, K. J., Bradley, K. C., Langley, W. A., Li, Z.-N., Lee, B.-J., Thoennes, S., Martin, J., Skehel, J. J., y Russell, R. J. (2008). Infectivity studies of influenza virus hemagglutinin receptor binding site mutants in mice. *J. Virol.*, 82(10), 5079–5083.

Meseko, C., Milani, A., Inuwa, B., Chinyere, C., Shittu, I., Ahmed, J., Giussani, E., Palumbo, E., Zecchin, B., Bonfante, F., Maniero, S., Angot, A., Niang, M., Fusaro, A., Gobbo, F., Terregino, C., Olasoju, T., Monne, I., y Muhammad, M. (2023). The Evolution of Highly Pathogenic Avian Influenza A (H5) in Poultry in Nigeria, 2021–2022. *Viruses*, 15(6), 1387.

Mine, J., Uchida, Y., Sharshov, K., Sobolev, I., Shestopalov, A., y Saito, T. (2019). Phylogeographic evidence for the inter-and intracontinental dissemination of avian influenza viruses via migration flyways. *One*, 14(6), 1–21.

Monne, I., Fusaro, A., Nelson, M. I., Bonfanti, L., Mulatti, P., Hughes, J., Murcia, P. R., Schivo, A., Valastro, V., y Moreno, A. (2014). Emergence of a highly pathogenic avian influenza virus from a low-pathogenic progenitor. *J. Virol.*, 88(8), 4375–4388.

Montalvo-Corral, M., Reyes-Leyva, J., y Hernandez, J. (2010). Avian influenza: Eco-epidemiological aspects of the virus in its natural hosts, the migratory waterfowls. *Rev. Chil. de Hist. Nat.*, 83(4), 543–556.

Moreira, É. A., Weber, A., Bolte, H., Kolesnikova, L., Giese, S., Lakdawala, S., Beer, M., Zimmer, G., García-Sastre, A., y Schwemmle, M. (2016). A conserved influenza A virus nucleoprotein code controls specific viral genome packaging. *Nat. Commun.*, 7(12861), 1–11.

Morgan, I., y Westbury, H. (1981). Virological studies of Adelie penguins (*Pygoscelis adeliae*) in Antarctica. *Avian Diseases*, 1019–1026.

Morgan, I., y Westbury, H. (1988). Studies of viruses in penguins in the Vestfold Hills. *Hydrobiologia*, 165(1), 263–269.

Morgulis, A., Coulouris, G., Raytselis, Y., Madden, T. L., Agarwala, R., y Schäffer, A. A. (2008). Database indexing for production MegaBLAST searches. *Bioinformatics*, 24(16), 1757–1764.

Mueller, M., Renzullo, S., Brooks, R., Ruggli, N., y Hofmann, M. A. (2010). Antigenic characterization of recombinant hemagglutinin proteins derived from different avian influenza virus subtypes. *One*, 5(2), e9097–e9106.

Muraki, Y., y Hongo, S. (2010). The molecular virology and reverse genetics of influenza C virus. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 63(3), 157–165.

Musharrafieh, R., Ma, C., y Wang, J. (2020). Discovery of M2 channel blockers targeting the drug-resistant double mutants M2-S31N/L26I and M2-S31N/V27A from the influenza A viruses. *European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 141, 105124.

Nabil, N. M., Erfan, A. M., Tawakol, M. M., Haggag, N. M., Naguib, M. M., y Samy, A. (2020). Wild birds in live birds markets: Potential reservoirs of enzootic avian influenza viruses and antimicrobial resistant enterobacteriaceae in northern Egypt. *Pathogens*, 9(3), 196.

Nakatsu, S., Murakami, S., Shindo, K., Horimoto, T., Sagara, H., Noda, T., y Kawaoka, Y. (2018). Influenza C and D Viruses Package Eight Organized Ribonucleoprotein Complexes. *J. Virol.*, 92(6), 1–9.

Nam, J.-H., Shim, S.-M., Song, E.-J., España, E., Jeong, D.-G., Song, D., y Kim, J.-K. (2017). Rapid virulence shift of an H5N2 avian influenza virus during a single passage in mice. *Arch. Virol.*, 162(10), 3017–3024.

Navarro-López, R., Alcazar, C. J., Guillen, A. M., Piña, H. J., Flores, E. B., Hernández, D. L., y Pacheco, V. F. (2023a). Avance IA - Influenza Aviar. *CPA-DINESA*, 1(8), 1–24.

Navarro-López, R., Alcazar, C. J., Guillen, A. M., Piña, H. J., Flores, E. B., Hernández, D. L., y Pacheco, V. F. (2023b). Avance IA - Influenza Aviar. *CPA-DINESA*, 1(13), 1–24.

Navarro-López, R., Alcazar, C. J., Guillen, A. M., Piña, H. J., Flores, E. B., Hernández, D. L., y Pacheco, V. F. (2023c). Avance IA - Influenza Aviar. *CPA-DINESA*, 11, 1–24.

Navarro-Lopez, R., Xu, W., Gomez-Romero, N., Velazquez-Salinas, L., y Berhane, Y. (2022a). Phylogenetic Inference of the 2022 Highly Pathogenic H7N3 Avian Influenza Outbreak in Northern Mexico. *Pathogens*, 11(11), 1284.

Navarro-Lopez, R., Xu, W., Gomez-Romero, N., Velazquez-Salinas, L., y Berhane, Y. (2022b). Phylogenetic Inference of the 2022 Highly Pathogenic H7N3 Avian Influenza Outbreak in Northern Mexico. *Pathogens*, 11(11), 1284.

NCBI. (2023). *Influenza virus database*. Influenza Virus Resource -Information, Search and Analysis. Consultado el 04 de julio de 2023 en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/FLU/Database/nph-select.cgi?go=database>

Nei, M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press.

Nei, M., y Kumar, S. (2000). Phylogenetic Inference: Distance Methods. En M. Nei y S. Kumar (Eds.), *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press.

Neumann, G., y Kawaoka, Y. (2011). Influenza viruses: Molecular virology. *Encyclopedia of Life Sciences*, 1–12.

Nielsen, H. (2017). Predicting Secretory Proteins with SignalP. En D. Kihara (Ed.), *Protein Function Prediction* (Vol. 1611, pp. 59–73). Springer New York.

Noda, T. (2021). Selective genome packaging mechanisms of influenza A viruses. *Cold Spring Harb. Perspect. Med*, 11, 1–13.

Núñez, I. A., y Ross, T. M. (2019). A review of H5Nx avian influenza viruses. *Ther. Adv. Vaccines Immunother.*, 7, 1–6.

Odagiri, T., Ishida, H., Li, J.-Y., Endo, M., Kobayashi, T., Kamiki, H., Matsugo, H., Takenaka-Uema, A., Murakami, S., y Horimoto, T. (2018). Antigenic heterogeneity among phylogenetic clusters of influenza D viruses. *J. Vet. Med. Sci.*, 80(8), 1241–1244.

Okamatsu, M., Saito, T., Yamamoto, Y., Mase, M., Tsuduku, S., Nakamura, K., Tsukamoto, K., y Yamaguchi, S. (2007). Low pathogenicity H5N2 avian influenza outbreak in Japan during the 2005–2006. *Veterinary Microbiology*, 124(1), 35–46.

Organización Mundial de Sanidad Animal, Swayne, D. E., y Brown, I. (2023). CHAPTER 3 .3.4. Avian Influenza (Including infection with high pathogenicity avian Influenza viruses). En *OMSA en Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals* (12nd ed., pp. 1–28). World Organisation for Animal Health.

Organización Panamericana de la Salud. (2010). *Diagnóstico de virus de influenza en mamíferos y aves*. Centro Panamericano de Fiebre Aftosa - Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud.

Pan American Health Organization, y World Health Organization. (2023). *Epidemiological Update: Outbreaks of avian influenza caused by influenza A(H5N1)*

in the Region of the Americas 11 May 2023. Pan American Health Organization - Regional Office for the Americas of the World Health Organization. Consultado 20 de mayo de 2023 en, <https://www.paho.org/en/documents/epidemiological-update-outbreaks-avian-influenza-caused-influenza-a-h5n1-region-americas>

Pantin-Jackwood, M. J. (2017). Pathobiology of avian influenza in domestic ducks. En Swayne, D.E., *Animal influenza* (2nd ed., pp. 337–362). John Wiley y Sons.

Parry, R., Wille, M., Turnbull, O. M., Geoghegan, J. L., y Holmes, E. C. (2020). Divergent influenza-like viruses of amphibians and fish support an ancient evolutionary association. *Viruses*, 12(1042), 1–14.

Parums, D. V. (2023). Global Surveillance of Highly Pathogenic Avian Influenza Viruses in Poultry, Wild Birds, and Mammals to Prevent a Human Influenza Pandemic. *Med. Sci. Monit.*, 29, e939968–e939971.

Pauly, M. D., Procario, M. C., y Luring, A. S. (2017). A novel twelve class fluctuation test reveals higher than expected mutation rates for influenza A viruses. *Elife*, 6, 1–18.

Pei, Y., Swinton, J., Ojkic, D., y Sharif, S. (2009). Genetic characterization of two low pathogenic avian influenza virus H5N1 isolates from Ontario, Canada. *Virus Genes*, 38(1), 149–154.

Perdue, M. L. (2008). Molecular determinants of pathogenicity for avian influenza viruses. En Swayne, D.E., *Avian influenza* (1st ed, pp. 23–42). Blackwall.

Pereira, H., Tumova, B., y Webster, R. G. (1967). Antigenic relationship between influenza A viruses of human and avian origins. *Nature*, 215(5104), 982–983.

Perez, D. R., y de Wit, J. J. (Sjaak). (2017). Low-pathogenicity avian influenza. En Swayne, D.E., *Animal influenza* (2nd ed., pp. 271–301). John Wiley y Sons.

- Pérez-Losada, M., Arenas, M., Galán, J. C., Palero, F., y González-Candelas, F. (2015). Recombination in viruses: Mechanisms, methods of study, and evolutionary consequences. *Infect. Genet. Evol.*, 30, 296–307.
- Perroncito, E. (1878). Epizootia tifoide nei gallinacei. *Annali Accad. Agri. Torino.*, 87–126.
- Petersen, T. N., Brunak, S., Von Heijne, G., y Nielsen, H. (2011). SignalP 4.0: Discriminating signal peptides from transmembrane regions. *Nat. Methods*, 8(10), 785–786.
- Pflug, A., Guilligay, D., Reich, S., y Cusack, S. (2014). Structure of influenza A polymerase bound to the viral RNA promoter. *Nature*, 516(7531), 355–360.
- Piasecka, J., Jarmolowicz, A., y Kierzek, E. (2020). Organization of the influenza a virus genomic rna in the viral replication cycle—Structure, interactions, and implications for the emergence of new strains. *Pathogens*, 9(11), 951–961.
- Ping, J., Selman, M., Tyler, S., Forbes, N., Keleta, L., y Brown, E. G. (2012). Low-pathogenic avian influenza virus A/turkey/Ontario/6213/1966 (H5N1) is the progenitor of highly pathogenic A/turkey/Ontario/7732/1966 (H5N9). *The Journal of General Virology*, 93(Pt 8), 1649–1657.
- Plaza, P. I., Gamarra-Toledo, V., Euguí, J. R., y Lambertucci, S. A. (2024). Recent Changes in Patterns of Mammal Infection with Highly Pathogenic Avian Influenza A(H5N1) Virus Worldwide. *Emerging Infectious Diseases*, 30(3), 444–452.
- Popova, A. V., Safina, K. R., Ptushenko, V. V., Stolyarova, A. V., Favorov, A. V., Neverov, A. D., y Bazykin, G. A. (2019). Allele-specific nonstationarity in evolution of influenza A virus surface proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 116(42), 21104–21112.

Prosser, D. J., Chen, J., Ahlstrom, C. A., Reeves, A. B., Poulson, R. L., Sullivan, J. D., McAuley, D., Callahan, C. R., McGowan, P. C., y Bahl, J. (2022). Maintenance and dissemination of avian-origin influenza A virus within the northern Atlantic Flyway of North America. *Pathog.*, 18(6), 1–25. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010605>

Prosser, D. J., Hungerford, L. L., Erwin, R. M., Ottinger, M. A., Takekawa, J. Y., Newman, S. H., Xiao, X., y Ellis, E. C. (2016). Spatial modeling of wild bird risk factors for highly pathogenic A (H5N1) avian influenza virus transmission. *Avian diseases*, 60(1s), 329–336.

Rambaut, A., Drummond, A. J., Xie, D., Baele, G., y Suchard, M. A. (2018). Posterior Summarization in Bayesian Phylogenetics Using Tracer 1.7. *Systematic Biology*, 67(5), 901–904.

Ramey, A. M., Hill, N. J., DeLiberto, T. J., Gibbs, S. E., Camille Hopkins, M., Lang, A. S., Poulson, R. L., Prosser, D. J., Sleeman, J. M., y Stallknecht, D. E. (2022). Highly pathogenic avian influenza is an emerging disease threat to wild birds in North America. *J. Wildl. Manage.*, 86(2), 22171–22192.

Ran, Z., Shen, H., Lang, Y., Kolb, E. A., Turan, N., Zhu, L., Ma, J., Bawa, B., Liu, Q., y Liu, H. (2015). Domestic pigs are susceptible to infection with influenza B viruses. *J. Virol.*, 89(9), 4818–4826.

Rashid, F., Xie, Z., Li, M., Xie, Z., Luo, S., y Xie, L. (2023). Roles and functions of IAV proteins in host immune evasion. *Front. Immunol.*, 10(3389), 1–9.

Rasmussen, E. A., Czaja, A., Cuthbert, F. J., Tan, G. S., Lemey, P., Nelson, M. I., y Culhane, M. R. (2023). Influenza A viruses in gulls in landfills and freshwater habitats in Minnesota, United States. *Front. Genet.*, 14(1172048), 1–13.

Reperant, L. A., Kuiken, T., y Osterhaus, A. D. M. E. (2012). Influenza viruses: From birds to humans. *Human Vaccines y Immunotherapeutics*, 8(1), 7–16.

Rivolta, S., y Delprato, D. (1880). Delle lesioni patologiche del sangue. Tifo essudativo. En *L'ornitologia o la medicina degli uccelli domestici e semidomestici*. (pp. 460–462). Verlag GGA Uebelhart.

Rose, K., Newman, S., Uhart, M., y Lubroth, J. (2007). *Wild bird Highly Pathogenic Avian Influenza Surveillance—Sample collection from healthy, sick and dead birds*. Food and Agriculture Organization of the United Nations - Animal Production and Health.

Rowan, M. (1962). Mass mortality among European common terns in South Africa in April–May 1961. *Brit. Birds*, 55, 103–114.

Russell, C. J. (2014). Acid-induced membrane fusion by the hemagglutinin protein and its role in influenza virus biology. En *Compans, R.W. y Oldstone, M. B. A., Influenza Pathogenesis and Control—Volume I* (Volumen 385-Curr. Top. Microbiol. Immunol., pp. 93–116). Springer Cham.

Russell, C. J. (2021). Hemagglutinin stability and its impact on influenza A virus infectivity, pathogenicity, and transmissibility in avians, mice, swine, seals, ferrets, and humans. *Viruses*, 13(746), 1–32.

Russell, C. J., Hu, M., y Okda, F. A. (2018). Influenza hemagglutinin protein stability, activation, and pandemic risk. *Trends Microbiol.*, 26(10), 841–853.

Russell, R. E., DiRenzo, G. V., Szymanski, J. A., Alger, K. E., y Grant, E. H. (2020). Principles and mechanisms of wildlife population persistence in the face of disease. *Front. Ecol. Evol.*, 8(569016), 1–11.

Saad, N., Esaki, M., Kojima, I., Khalil, A. M., Osuga, S., Shahein, M. A., Okuya, K., Ozawa, M., y Alhatlani, B. Y. (2024). Phylogenetic Characterization of Novel Reassortant 2.3.4.4b H5N8 Highly Pathogenic Avian Influenza Viruses Isolated from Domestic Ducks in Egypt During the Winter Season 2021–2022. *Viruses*, 16(11),1655.

Saito, T., Tanikawa, T., Uchida, Y., Takemae, N., Kanehira, K., y Tsunekuni, R. (2015). Intracontinental and intercontinental dissemination of Asian H5 highly pathogenic avian influenza virus (clade 2.3.4.4) in the winter of 2014-2015: Dissemination of clade 2.3.4.4 HPAIV in 2014-2015. *Rev. Med. Virol.*, 25(6), 388–405.

Sakai, T., Nishimura, S. I., Naito, T., y Saito, M. (2017). Influenza A virus hemagglutinin and neuraminidase act as novel motile machinery. *Sci. Rep.*, 7(45043), 1–11.

Schäfer, W. (1955). Vergleichende sero-immunologische Untersuchungen über die Viren der Influenza und klassischen Geflügelpest. *Zeitschrift für Naturforschung B*, 10(2), 81–91.

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2023a). ACUERDO mediante el cual se activa, integra y opera el Dispositivo Nacional de Emergencia de Sanidad Animal, para el control y, en su caso, erradicación de la Influenza Aviar de Alta Patogenicidad A, subtipo H5N1, así como para prevenir su diseminación dentro del territorio nacional. *Diario Oficial de la Federación*, Consultado 06 de marzo de 2024 en, https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5712440 y [fecha=26/12/2023#gsc.tab=0](https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5712440).

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2023b). ACUERDO por el que se declara al territorio de los Estados Unidos Mexicanos, como zona libre de Influenza Aviar tipo A, subtipo H5N1. *Diario Oficial de la Federación*, Consultado el 06 de

marzo de 2024 en, https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5703833 y fecha=04/10/2023#gsc.tab=0.

Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural (1996). Campaña Nacional contra la Influenza Aviar. Norma Oficial Mexicana NOM-044-ZOO-1995. Estado Unidos Mexicanos

Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural (1998). Requisitos mínimos para la elaboración de vacunas emulsionadas inactivas contra la influenza aviar subtipo H5N2. Norma Oficial Mexicana NOM-055-ZOO-1995. Estados Unidos Mexicanos.

Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural (1999). Especificaciones técnicas para las pruebas diagnósticas que realicen los laboratorios de pruebas aprobados en materia zoosanitaria. Norma Oficial Mexicana NOM-056-ZOO-1995. Estados Unidos Mexicanos.

Sempere Borau, M., y Stertz, S. (2021). Entry of influenza A virus into host cells—Recent progress and remaining challenges. *Curr. Opin. Virol.*, 48, 23–29.

Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (2023). *Influenza aviar AH7N3: Situación actual en México*. SENASICA. Consultado 04 de julio de 2023 en https://dj.senasica.gob.mx/AtlasSanitario/storymaps/ia_focos.html#

Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (2023). Riesgos en la avicultura nacional e impactos económicos en los costos de producción avícola por los brotes de influenza aviar H5N1, en México (15 de octubre al 27 de diciembre de 2022). Consultado el 06 de marzo de 2024 en, <https://dj.senasica.gob.mx/analisis sanitario/Secciones/3>.

Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. (2024). *Panorama nacional—Influenza Aviar de Alta Patogenicidad* (pp. 1–12) [Análisis

Estratégico de Riesgos Sanitarios].
https://dj.senasica.gob.mx/Contenido/files/2024/septiembre/6ACTPANIAAPago24p%C3%BAblico_4e414cc8-6fe9-4f59-b97b-6a5c29453d05.pdf

Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. (2025). *Lista Vacunas A H5N2*. Gobierno de México. Consultado el 24 de mayo de 2025 en, <https://www.gob.mx/senasica/documentos/lista-vacunas-a-h5n2>

Shafiuddin, M., y Boon, A. C. (2019). RNA Sequence features are at the core of influenza A virus genome packaging. *J. Mol. Biol.*, 431(21), 4217–4228.

Shan, T., Yang, S., Wang, H., Wang, H., Zhang, J., Gong, G., Xiao, Y., Yang, J., Wang, X., y Lu, J. (2022). Virome in the cloaca of wild and breeding birds revealed a diversity of significant viruses. *Microbiome*, 10(1), 1–21.

Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, N. S., Wang, J. T., Ramage, D., Amin, N., Schwikowski, B., y Ideker, T. (2003). Cytoscape: A software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Research*, 13(11), 2498–2504.

Shao, W., Li, X., Goraya, M. U., Wang, S., y Chen, J.-L. (2017). Evolution of influenza A virus by mutation and re-assortment. *Int. J. Mol. Sci.*, 18(1650), 1–13.

Shi, J., Zeng, X., Cui, P., Yan, C., y Chen, H. (2023). Alarming situation of emerging H5 and H7 avian influenza and effective control strategies. *Emerg. Microbes Infect.*, 12(1), 1–12.

Shi, M., Lin, X.-D., Chen, X., Tian, J.-H., Chen, L.-J., Li, K., Wang, W., Eden, J.-S., Shen, J.-J., y Liu, L. (2018). The evolutionary history of vertebrate RNA viruses. *Nature*, 556(7700), 197–202.

Shi, W., y Gao, G. F. (2021). Emerging H5N8 avian influenza viruses. *Science*, 372(6544), 784–786.

Shi, Y., Wu, Y., Zhang, W., Qi, J., y Gao, G. F. (2014). Enabling the 'host jump': Structural determinants of receptor-binding specificity in influenza A viruses. *Nat. Rev. Microbiol.*, 12(12), 822–831.

Shinya, K., Makino, A., Ozawa, M., Kim, J. H., Sakai-Tagawa, Y., Ito, M., Le, Q. M., y Kawaoka, Y. (2009). Ostrich involvement in the selection of H5N1 influenza virus possessing mammalian-type amino acids in the PB2 protein. *J. Virol.*, 83(24), 13015–13018.

Sims, L. D., y Brown, I. H. (2017). Multi-continental panzootic of H5 highly pathogenic avian influenza (1996–2015). En Swayne, D.E., *Animal influenza* (2nd ed., pp. 202–248). John Wiley y Sons.

Skelton, R. M., y Huber, V. C. (2022). Comparing influenza virus biology for understanding influenza d virus. *Viruses*, 14(5), 1036–1046.

Somveille, M., Manica, A., Butchart, S. H., y Rodrigues, A. S. (2013). Mapping global diversity patterns for migratory birds. *one*, 8(8), e70907.

Song, Y., Li, W., Wu, W., Liu, Z., He, Z., Chen, Z., Zhao, B., Wu, S., Yang, C., y Qu, X. (2019). Phylogeny, pathogenicity, transmission, and host immune responses of four H5N6 avian influenza viruses in chickens and mice. *Viruses*, 11(1048), 1–20.

Sonnberg, S., Webby, R. J., y Webster, R. G. (2013). Natural history of highly pathogenic avian influenza H5N1. *Virus Res.*, 178(1), 63–77.

South Dakota State University. (2016). *New virus gets official name, influenza D*. ScienceDaily. Consultado 15 de enero de 2024 en, www.sciencedaily.com/releases/2016/09/160901140433.htm

Spackman, E. (2020). *Animal Influenza virus—Methods and protocols* (3rd). Humana Press.

Spickler, A. R. (2022). *Influenza* (pp. 1–39). The Center for Food Security and Public Health. Consultado el 21 de diciembre de 2022 en: <https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/influenza.pdf>

Stallknecht, D. E., y Brown, J. D. (2017). Wild bird infections and the ecology of avian influenza viruses. En Swayne, D.E., *Animal influenza* (2nd ed., pp. 3–28). John Wiley y Sons.

Steel, J., y Lowen, A. C. (2014). Influenza A virus reassortment. En Compans, R. W. y Oldstone, M. B. A., *Influenza Pathogenesis and Control-Volume I* (pp. 377–401). Springer Cham.

Stubbs, T. M., y Te Velhuis, A. J. (2014). The RNA-dependent RNA polymerase of the influenza A virus. *Future Virol.*, 9(9), 863–876.

Su, S., Fu, X., Li, G., Kerlin, F., y Veit, M. (2017). Novel Influenza D virus: Epidemiology, pathology, evolution and biological characteristics. *Virulence*, 8(8), 1580–1591.

Suarez, D. L. (2017). Influenza A virus. En Swayne, D.E., *Animal influenza* (2nd ed., pp. 3–28). John Wiley y Sons.

Suarez, D. L., Spackman, E., y Senne, D. A. (2003). Update on Molecular Epidemiology of H1, H5, and H7 Influenza Virus Infections in Poultry in North America. *Avian Diseases*, 47(s3), 888–897.

Sun, X., Belser, J. A., Yang, H., Pulit-Penaloza, J. A., Pappas, C., Brock, N., Zeng, H., Creager, H. M., Stevens, J., y Maines, T. R. (2019). Identification of key

hemagglutinin residues responsible for cleavage, acid stability, and virulence of fifth-wave highly pathogenic avian influenza A(H7N9) viruses. *Virology*, 535, 232–240.

Suttie, A., Deng, Y.-M., Greenhill, A. R., Dussart, P., Horwood, P. F., y Karlsson, E. A. (2019). Inventory of molecular markers affecting biological characteristics of avian influenza A viruses. *Virus Genes*, 55, 739–768.

Swayne, D. E. (2008). High Pathogenicity Avian Influenza in the Americas. En Swayne, D.E., *Avian influenza* (1st ed, pp. 191–216). Blackwall.

Swayne, D. E. (2017). The global nature of avian influenza. En Swayne, D.E., *Animal influenza* (2nd ed., pp. 177–201). John Wiley y Sons.

Swayne, D. E., y Suarez, D. L. (2000). Highly pathogenic avian influenza. *Rev Sci Tech*, 19(2), 463–482. <https://doi.org/10.20506/rst.19.2.1230>

Swayne, D. E., Suarez, D. L., y Sims, L. D. (2020). Influenza. En Swayne, D.E., *Diseases of Poultry* (14 th, pp. 210–256). John Wiley y Sons.

Taft, A. S., Ozawa, M., Fitch, A., Depasse, J. V., Halfmann, P. J., Hill-Batorski, L., Hatta, M., Friedrich, T. C., Lopes, T. J. S., Maher, E. A., Ghedin, E., Macken, C. A., Neumann, G., y Kawaoka, Y. (2015). Identification of mammalian-adapting mutations in the polymerase complex of an avian H5N1 influenza virus. *Nat. Commun.*, 6, 7491.

Tamura, K., Stecher, G., y Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022–3027.

Tan, J., Yin, Z., Huang, H., y Zeng, C. (2019). Characterization and phylogenetic analysis of *Acheilognathus chankaensis* mitochondrial genome. *Mitochondrial DNA Part B*, 4(1), 1148–1149.

- Tarendeau, F., Crepin, T., Guilligay, D., Ruigrok, R. W. H., Cusack, S., y Hart, D. J. (2008). Host Determinant Residue Lysine 627 Lies on the Surface of a Discrete, Folded Domain of Influenza Virus Polymerase PB2 Subunit. *Pathogens*, 4(8), e1000136.
- Targonsky, P. V., y Poland, G. A. (2017). Influenza. En *Quah, S.T., y Cockerman, W., International encyclopedia of public health* (2nd ed, pp. 238–246). Academic Press.
- Taubenberger, J. K., y Kash, J. C. (2010). Influenza virus evolution, host adaptation, and pandemic formation. *Cell Host Microbe*, 7(6), 440–451.
- Thompson, A. J., y Paulson, J. C. (2021). Adaptation of influenza viruses to human airway receptors. *J. Biol. Chem.*, 296(100017), 1–17.
- Tian, J., Li, M., Bai, X., Li, Y., Wang, X., Wang, F., Shi, J., Zeng, X., Tian, G., y Li, Y. (2021). H5 low pathogenic avian influenza viruses maintained in wild birds in China. *Vet. Microbiol.*, 263(109268).
- Tosh, C., Nagarajan, S., Murugkar, H. V., Bhatia, S., y Kulkarni, D. D. (2014). Evolution and spread of avian influenza H5N1 viruses. *Adv. Anim. Vet. Sci.*, 2(4S), 33–41.
- Trinh, T.-T. T., Tiwari, I., Durairaj, K., Duong, B. T., Nguyen, A. T. V., Tuong, H. T., Hoang, V. T., Than, D. D., Nam, S., Yeo, S.-J., y Park, H. (2021). Genetic Characterization and Pathogenesis of Avian Influenza Virus H7N3 Isolated from Spot-Billed Ducks in South Korea, Early 2019. *Viruses*, 13(5), 856.
- Trovão, N. S., Talavera, G. A., Nelson, M. I., y Perez de la Rosa, J. D. (2020). Evolution of highly pathogenic H7N3 avian influenza viruses in Mexico. *Zoonoses and Public Health*, 67(3), 318–323.

Uribe, M., Rodríguez-Posada, M. E., y Ramirez-Nieto, G. C. (2022). Molecular evidence of orthomyxovirus presence in colombian neotropical bats. *Front. Microbiol.*, 13(845546), 1–9.

Van De Peer, Y., y Salemi, M. (2009). Phylogenetic inference based on distance methods. En P. Lemey, M. Salemi, y A.-M. Vandamme (Eds.), *The Phylogenetic Handbook* (2a ed., pp. 142–180). Cambridge University Press.

van der Kolk, J. H. (2019). Role for migratory domestic poultry and/or wild birds in the global spread of avian influenza? *Vet. Q.*, 39(1), 161–167.

Vandegrift, K. J., Sokolow, S. H., Daszak, P., y Kilpatrick, A. M. (2010). Ecology of avian influenza viruses in a changing world. *Ann. New York Acad. Sci.*, 1195, 113–128.

Vasin, A., Temkina, O., Egorov, V., Klotchenko, S., Plotnikova, M., y Kiselev, O. (2014). Molecular mechanisms enhancing the proteome of influenza A viruses: An overview of recently discovered proteins. *Virus Res.*, 185, 53–63.

Venkatesan, P. (2023). Avian influenza spillover into mammals. *The Lancet Microbe*, 4(7), e492.

Venkatesh, D., Poen, M. J., Bestebroer, T. M., Scheuer, R. D., Vuong, O., Chkhaidze, M., Machablashvili, A., Mamuchadze, J., Ninua, L., y Fedorova, N. B. (2018). Avian influenza viruses in wild birds: Virus evolution in a multihost ecosystem. *J. Virol.*, 92(15), 00433–00451.

Verhagen, J. H., Fouchier, R. A., y Lewis, N. (2021). Highly pathogenic avian influenza viruses at the wild–domestic bird interface in Europe: Future directions for research and surveillance. *Viruses*, 13(2), 212–246.

Villarreal, C. (2009). Avian influenza in Mexico. *Revue Scientifique Et Technique (International Office of Epizootics)*, 28(1), 261–265.

Villarreal-Chávez, C., y Rivera-Cruz, E. (2003). An Update on Avian Influenza in Mexico. *Avian Diseases*, 47(s3), 1002–1005.

Wainwright, S., Trevennec, C., Claes, F., Vargas-Terán, M., Martin, V., y Lubroth, J. (2012). *Highly Pathogenic Avian Influenza in Mexico (H7N3)*. 26.

Wan, X. F. (2012). Lessons from Emergence of A/Goose/Guangdong/1996-Like H5N1 Highly Pathogenic Avian Influenza Viruses and Recent Influenza Surveillance Efforts in Southern China. *Zoonoses and public health*, 59(0 2), 32–42.

Wang, C., Lee, H. H. Y., Yang, Z. F., Mok, C. K. P., y Zhang, Z. (2016). PB2-Q591K Mutation Determines the Pathogenicity of Avian H9N2 Influenza Viruses for Mammalian Species. *ONE*, 11(9), e0162163.

Wang, Q., Li, Q., Liu, R., Zheng, M., Wen, J., y Zhao, G. (2016). Host cell interactome of PA protein of H5N1 influenza A virus in chicken cells. *J. Proteomics*, 136, 48–54.

Wang, T., Wei, F., y Liu, J. (2020). Emerging role of mucosal vaccine in preventing infection with avian influenza A viruses. *Viruses*, 12(862), 1–20.

Wang, Y., Tang, C. Y., y Wan, X.-F. (2022). Antigenic characterization of influenza and SARS-CoV-2 viruses. *Anal. Bioanal. Chem.*, 414(9), 2841–2881.

Wang, Y., Wang, M., Zhang, H., Zhao, C., Zhang, Y., He, G., Deng, G., Cui, P., Li, Y., y Liu, W. (2022). Emergence, evolution, and biological characteristics of H10N4 and H10N8 avian influenza viruses in migratory wild birds detected in eastern China in 2020. *Microbiol. Spectr.*, 10(2), e00807-22.

Watanabe, Y., Ibrahim, M. S., Suzuki, Y., y Ikuta, K. (2012). The changing nature of avian influenza A virus (H5N1). *Trends Microbiol.*, 20(1), 11–20.

White, M. C., y Lowen, A. C. (2018). Implications of segment mismatch for influenza A virus evolution. *J. Gen. Virol.*, 99, 3–16.

Williams, G. D., Townsend, D., Wylie, K. M., Kim, P. J., Amarasinghe, G. K., Kutluay, S. B., y Boon, A. C. (2018). Nucleotide resolution mapping of influenza A virus nucleoprotein-RNA interactions reveals RNA features required for replication. *Nat. Commun.*, 9(465), 1–12.

WOAH, y WAHIS. (2023). *WAHIS: World Animal Health Information System*. Avian Influenza A(H5N1) and the Continuing Outbreak. Consultado 16 de mayo de 2023 en, <https://wahis.woah.org/#/home>

World Health Organization. (2011). *Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza*. WHO Press.

Wu, H., Peng, X., Peng, X., y Wu, N. (2016). Amino acid substitutions involved in the adaptation of a novel highly pathogenic H5N2 avian influenza virus in mice. *Virology*, 13, 159.

Wu, N. C., y Wilson, I. A. (2020). Influenza Hemagglutinin Structures and Antibody Recognition. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, 10(8), a038778.

Wu, Y., Wu, Y., Tefsen, B., Shi, Y., y Gao, G. F. (2014). Bat-derived influenza-like viruses H17N10 and H18N11. *Trends Microbiol.*, 22(4), 183–191.

Xie, R., Edwards, K. M., Wille, M., Wei, X., Wong, S.-S., Zanin, M., El-Shesheny, R., Ducatez, M., Poon, L. L., y Kayali, G. (2023). The episodic resurgence of highly pathogenic avian influenza H5 virus. *Nature*, 622(7984), 810–817.

Xiong, X., Coombs, P. J., Martin, S. R., Liu, J., Xiao, H., McCauley, J. W., Locher, K., Walker, P. A., Collins, P. J., y Kawaoka, Y. (2013). Receptor binding by a ferret-transmissible H5 avian influenza virus. *Nature*, 497(7449), 392–396.

Xu, W., Navarro-López, R., Solis-Hernandez, M., Liljehult-Fuentes, F., Molina-Montiel, M., Lagunas-Ayala, M., Rocha-Martinez, M., Ferrara-Tijera, E., Pérez de la Rosa, J., y Berhane, Y. (2022). Evolutionary Dynamics of Mexican Lineage H5N2 Avian Influenza Viruses. *Viruses*, 14(5), 958–975.

Xu, Y., y Wojtczak, D. (2022). Dive into machine learning algorithms for influenza virus host prediction with hemagglutinin sequences. *BioSystems*, 220, 104740–104751.

Yamaji, R., Saad, M. D., Davis, C. T., Swayne, D. E., Wang, D., Wong, F. Y., McCauley, J. W., Peiris, J. M., Webby, R. J., y Fouchier, R. A. (2020). Pandemic potential of highly pathogenic avian influenza clade 2.3. 4.4 A (H5) viruses. *Rev. Med. Virol.*, 30(3), e2099.

Yang, H., Dong, Y., Bian, Y., Huo, C., Zhu, C., Qin, T., Chen, S., Peng, D., y Liu, X. (2023). The synergistic effect of residues 32T and 550L in the PA protein of H5 subtype avian influenza virus contributes to viral pathogenicity in mice. *Pathogens*, 19(7), e1011489.

Yang, J., Gong, Y., Zhang, C., Sun, J., Wong, G., Shi, W., Liu, W., Gao, G. F., y Bi, Y. (2022). Co-existence and co-infection of influenza A viruses and coronaviruses: Public health challenges. *The Innovation*, 3(5), 100306–100316.

Yang, W., Schountz, T., y Ma, W. (2021). Bat influenza viruses: Current status and perspective. *Viruses*, 13(4), 547–560.

Youk, S., Lee, D.-H., Ferreira, H. L., Afonso, C. L., Absalon, A. E., Swayne, D. E., Suarez, D. L., y Pantin-Jackwood, M. J. (2019). Rapid evolution of Mexican H7N3

highly pathogenic avian influenza viruses in poultry. *ONE*, 14(9), e0222457–e0222475.

Youk, S., Leyson, C. M., Parris, D. J., Kariithi, H. M., Suarez, D. L., y Pantin-Jackwood, M. J. (2022). Phylogenetic analysis, molecular changes, and adaptation to chickens of Mexican lineage H5N2 low-pathogenic avian influenza viruses from 1994 to 2019. *Transbound. Emerg. Dis.*, 69(5), 1445–1459.

Youk, S., Torchetti, M. K., Lantz, K., Lenocho, J. B., Killian, M. L., Leyson, C., Bevins, S. N., Dilione, K., Ip, H. S., y Stallknecht, D. E. (2023). H5N1 highly pathogenic avian influenza clade 2.3. 4.4 b in wild and domestic birds: Introductions into the United States and reassortments, December 2021–April 2022. *Virology*, 587(109860), 1–14.

Youk, S.-S., Leyson, C. M., Seibert, B. A., Jadhao, S., Perez, D. R., Suarez, D. L., y Pantin-Jackwood, M. J. (2021). Mutations in PB1, NP, HA, and NA Contribute to Increased Virus Fitness of H5N2 Highly Pathogenic Avian Influenza Virus Clade 2.3.4.4 in Chickens. *J. Virol.*, 95(5), e01675-20.

Yu, J., Li, F., y Wang, D. (2021). The first decade of research advances in influenza D virus. *J. Gen. Virol.*, 102(001529), 1–14.

Zaraket, H., Bridges, O. A., Duan, S., Baranovich, T., Yoon, S.-W., Reed, M. L., Salomon, R., Webby, R. J., Webster, R. G., y Russell, C. J. (2013). Increased acid stability of the hemagglutinin protein enhances H5N1 influenza virus growth in the upper respiratory tract but is insufficient for transmission in ferrets. *J. Virol.*, 87(17), 9911–9922.

Zhao, M., Wang, L., y Li, S. (2017). Influenza a virus–host protein interactions control viral pathogenesis. *Int. J. Mol. Sci.*, 18(8), 1673.

Zhao, Z.-M., Shortridge, K. F., Garcia, M., Guan, Y., y Wan, X.-F. (2008). Genotypic diversity of H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses. *J. Gen. Virol.*, 89(9), 2182–2193.

Zhu, W., Li, L., Yan, Z., Gan, T., Li, L., Chen, R., Chen, R., Zheng, Z., Hong, W., y Wang, J. (2015). Dual E627K and D701N mutations in the PB2 protein of A (H7N9) influenza virus increased its virulence in mammalian models. *Sci. Rep.*, 5(1), 14170.

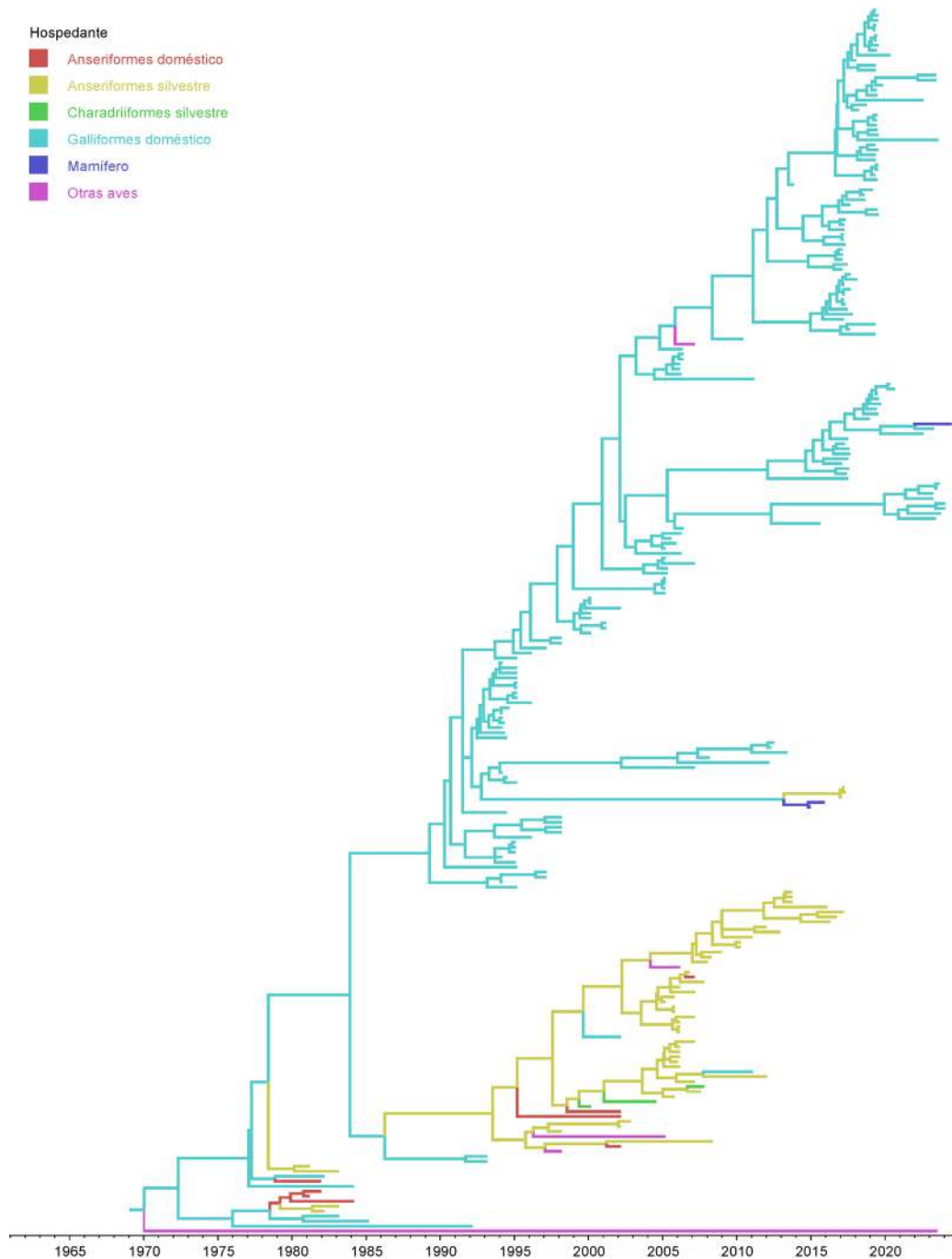
Zou, S., Tang, J., Zhang, Y., Liu, L., Li, X., Meng, Y., Zhao, X., Yang, L., Shu, Y., y Wang, D. (2020). Molecular characterization of H3 subtype avian influenza viruses based on poultry-related environmental surveillance in China between 2014 and 2017. *Virology*, 542, 8–19.

ANEXOS

Anexo I. Número de identificación de GenBank de H5N2, H7N3 y otros subtipos

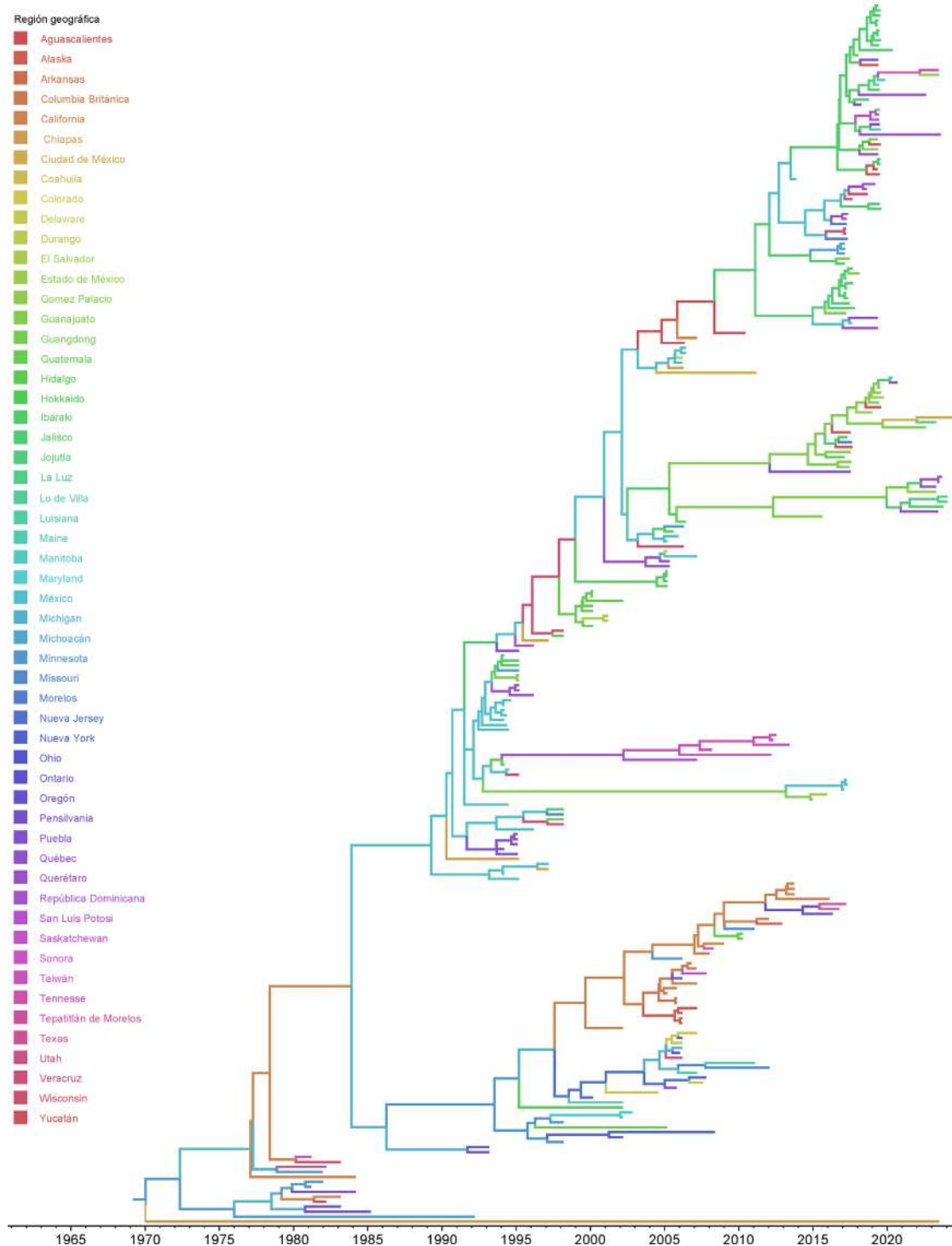
Subtipo	Cepa	Genbank							
		PB2	PB1	PA	HA	NP	NA	MP	NS
H5N2	A/chicken/Estado-de-Mexico/19-10/2018	PQ207993.1	PQ207986.1	PQ207979.1	PQ207950.1	PQ207969.1	PQ207963.1	PQ207956.1	
	A/chicken/Estado-de-Mexico/02-15-02/2023	PQ208037.1	PQ208036.1	PQ208035.1	PQ208030.1	PQ208033.1	PQ208032.1	PQ208031.1	PQ208034.1
	A/chicken/Estado-de-Mexico/192-08/2018	PQ208053.1	PQ208052.1	PQ208051.1	PQ208046.1	PQ208049.1	PQ208048.1	PQ208047.1	PQ208050.1
	A/chicken/Guanajuato/1121-7/2022	PQ208069.1	PQ208068.1	PQ208067.1	PQ208062.1	PQ208065.1	PQ208064.1	PQ208063.1	PQ208066.1
	A/chicken/Hidalgo/28159-232/1994	PQ208077.1	PQ208076.1	PQ208075.1	PQ208070.1	PQ208073.1	PQ208072.1	PQ208071.1	PQ208074.1
	A/chicken/Jalisco/03/2017	PQ207994.1	PQ207987.1	PQ207980.1		PQ207970.1	PQ207957.1	PQ207964.1	
	A/chicken/Jalisco/3-8-08/2022	PQ208117.1	PQ208116.1	PQ208115.1	PQ208110.1	PQ208113.1	PQ208112.1	PQ208111.1	PQ208114.1
	A/chicken/Jalisco/8-4-03/2020	PQ208125.1	PQ208124.1	PQ208123.1	PQ208118.1	PQ208121.1	PQ208120.1	PQ208119.1	PQ208122.1
	A/chicken/Puebla/1-14-02/2023	PQ208149.1	PQ208148.1	PQ208147.1	PQ208142.1	PQ208145.1	PQ208144.1	PQ208143.1	PQ208146.1
	A/chicken/Queretaro/011-07/2020	PQ208165.1	PQ208164.1	PQ208163.1	PQ208158.1	PQ208161.1	PQ208160.1	PQ208159.1	PQ208162.1
	A/chicken/Queretaro/05/2023	PQ207995.1	PQ207988.1	PQ207981.1	PQ207951.1	PQ207971.1	PQ207965.1	PQ207958.1	
	A/chicken/Queretaro/22-6-04/2022		PQ207989.1	PQ207982.1	PQ207952.1	PQ207972.1	PQ207966.1	PQ207959.1	PQ207976.1
	A/chicken/Queretaro/5-07/2023	PQ207996.1	PQ207990.1	PQ207983.1	PQ207953.1	PQ207973.1	PQ207967.1	PQ207960.1	
	A/chicken/Queretaro/6-13-04/2021	PQ208181.1	PQ208180.1	PQ208179.1	PQ208174.1	PQ208177.1	PQ208176.1	PQ208175.1	PQ208178.1
	A/chicken/Queretaro/5-2-01/2019(H5)	PQ207997.1	PQ207991.1	PQ207984.1	PQ207954.1	PQ207974.1		PQ207961.1	
H7N3	A/chicken/Aguascalientes/12/2021	PQ207992.1	PQ207985.1	PQ207978.1	PQ207949.1	PQ207968.1	PQ207962.1	PQ207955.1	
	A/chicken/Aguascalientes/10/2021	PQ208021.1	PQ208020.1	PQ208019.1	PQ208014.1	PQ208017.1	PQ208016.1	PQ208015.1	PQ208018.1
	A/chicken/Aguascalientes/4-10/2023	PQ208029.1	PQ208028.1	PQ208027.1	PQ208022.1	PQ208025.1	PQ208024.1	PQ208023.1	PQ208026.1
	A/chicken/Estado-de-Mexico/09-06/2009	PQ208045.1	PQ208044.1	PQ208043.1	PQ208038.1	PQ208041.1	PQ208040.1	PQ208039.1	PQ208042.1
	A/chicken/Estado-de-Mexico/21-14/2014	PQ208061.1	PQ208060.1	PQ208059.1	PQ208054.1	PQ208057.1	PQ208056.1	PQ208055.1	PQ208058.1
	A/chicken/Jalisco/05/2018	PQ208085.1	PQ208084.1	PQ208083.1	PQ208078.1	PQ208081.1	PQ208080.1	PQ208079.1	PQ208082.1
	A/chicken/Jalisco/10/2021	PQ208093.1	PQ208092.1	PQ208091.1	PQ208086.1	PQ208089.1	PQ208088.1	PQ208087.1	PQ208090.1
	A/chicken/Jalisco/11/2023	PQ208101.1	PQ208100.1	PQ208099.1	PQ208094.1	PQ208097.1	PQ208096.1	PQ208095.1	PQ208098.1
	A/chicken/Jalisco/16-07/2023	PQ208109.1	PQ208108.1	PQ208107.1	PQ208102.1	PQ208105.1	PQ208104.1	PQ208103.1	PQ208106.1
	A/chicken/Jalisco/86-1-03/2022	PQ208133.1	PQ208132.1	PQ208131.1	PQ208126.1	PQ208129.1	PQ208128.1	PQ208127.1	PQ208130.1
	A/chicken/Puebla/02/2019	PQ208141.1	PQ208140.1	PQ208139.1	PQ208134.1	PQ208137.1	PQ208136.1	PQ208135.1	PQ208138.1
	A/chicken/Queretaro/01/2018	PQ208157.1	PQ208156.1	PQ208155.1	PQ208150.1	PQ208153.1	PQ208152.1	PQ208151.1	PQ208154.1
	A/cinnamon teal/Mexico/2817/2006	KC669390.1	KC669389.1	KC669388.1	KC669387.1	KC669386.1	KC669385.1	KC669384.1	KC669383.1
H2N9	A/avian/Aguascalientes/J28/2013	PQ208013.1	PQ208012.1	PQ208011.1	PQ208006.1	PQ208009.1	PQ208008.1	PQ208007.1	PQ208010.1
H1N1	A/chicken/Queretaro/5-01/2019	PQ208173.1	PQ208172.1	PQ208171.1	PQ208166.1	PQ208169.1	PQ208168.1	PQ208167.1	PQ208170.1
H4N6	A/Woodpeckers/Chiapas/001-01/2023	PQ208005.1	PQ208004.1	PQ208003.1	PQ207998.1	PQ208001.1	PQ208000.1	PQ207999.1	PQ208002.1

Anexo II. Análisis de máxima credibilidad de clado del gen HA de H5N2.



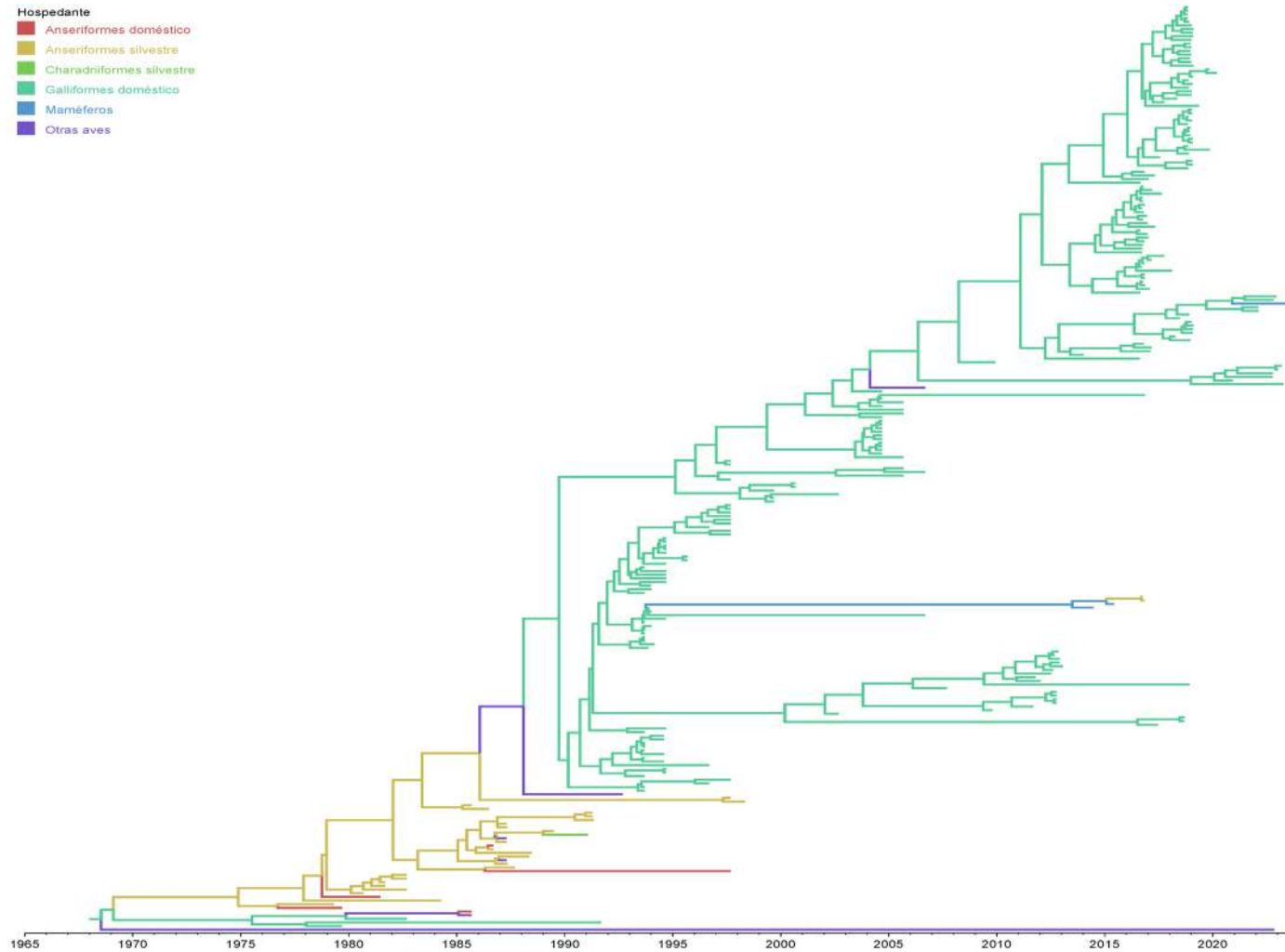
Los brazos representan los saltos evolutivos con base al rasgo de hospedante: Anseriformes doméstico, Anseriformes silvestre, Charadriiformes silvestre, Galliformes doméstico, mamíferos y otras aves.

ANEXO II. (Continuación)



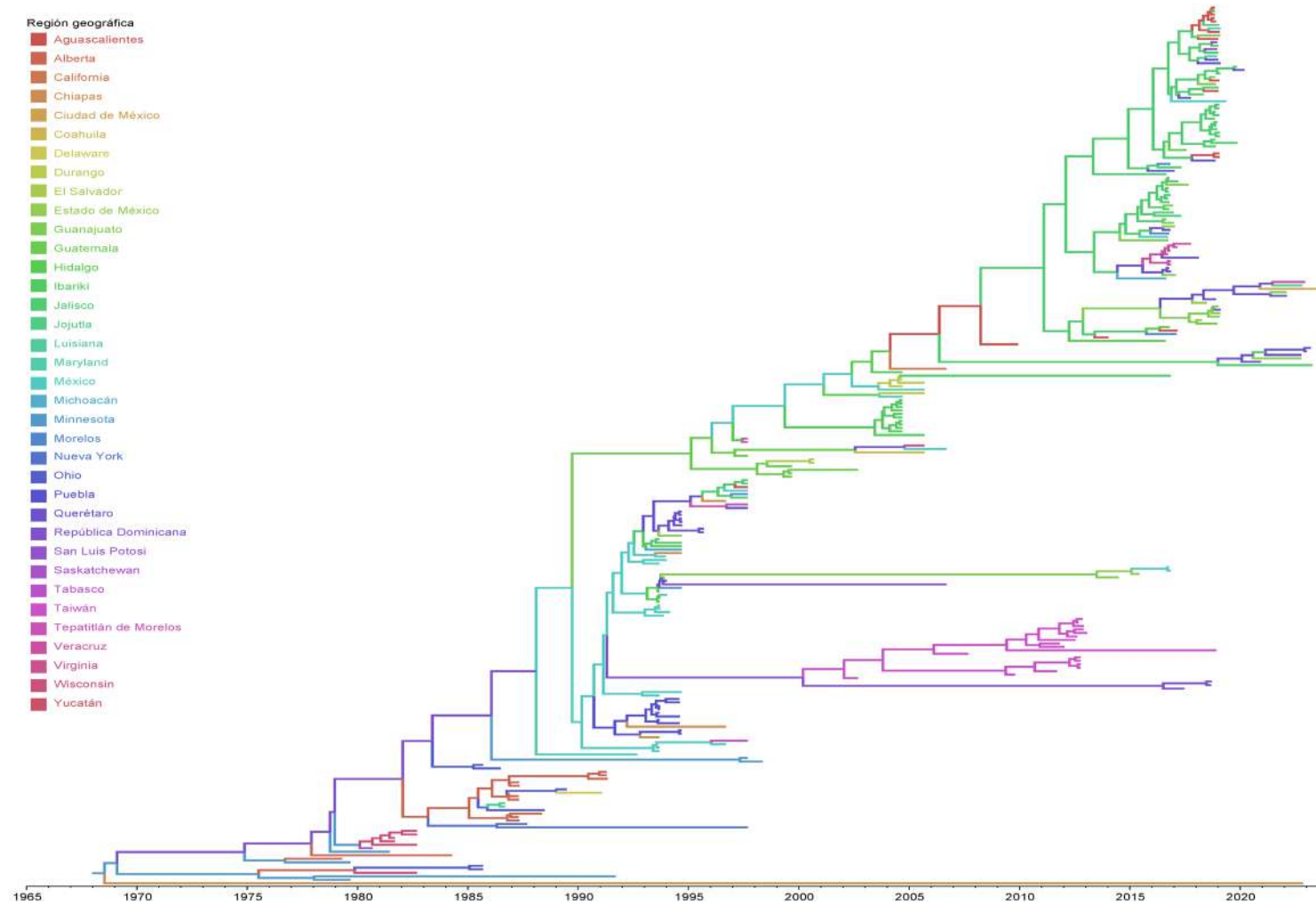
Los brazos representan los saltos evolutivos con base al rasgo de región geográfica conformado por 55 estados y/o provincias de Norte América, Centro América, y Asia Oriental.

Anexo III. Análisis de máxima credibilidad de clado del gen NA de H5N2



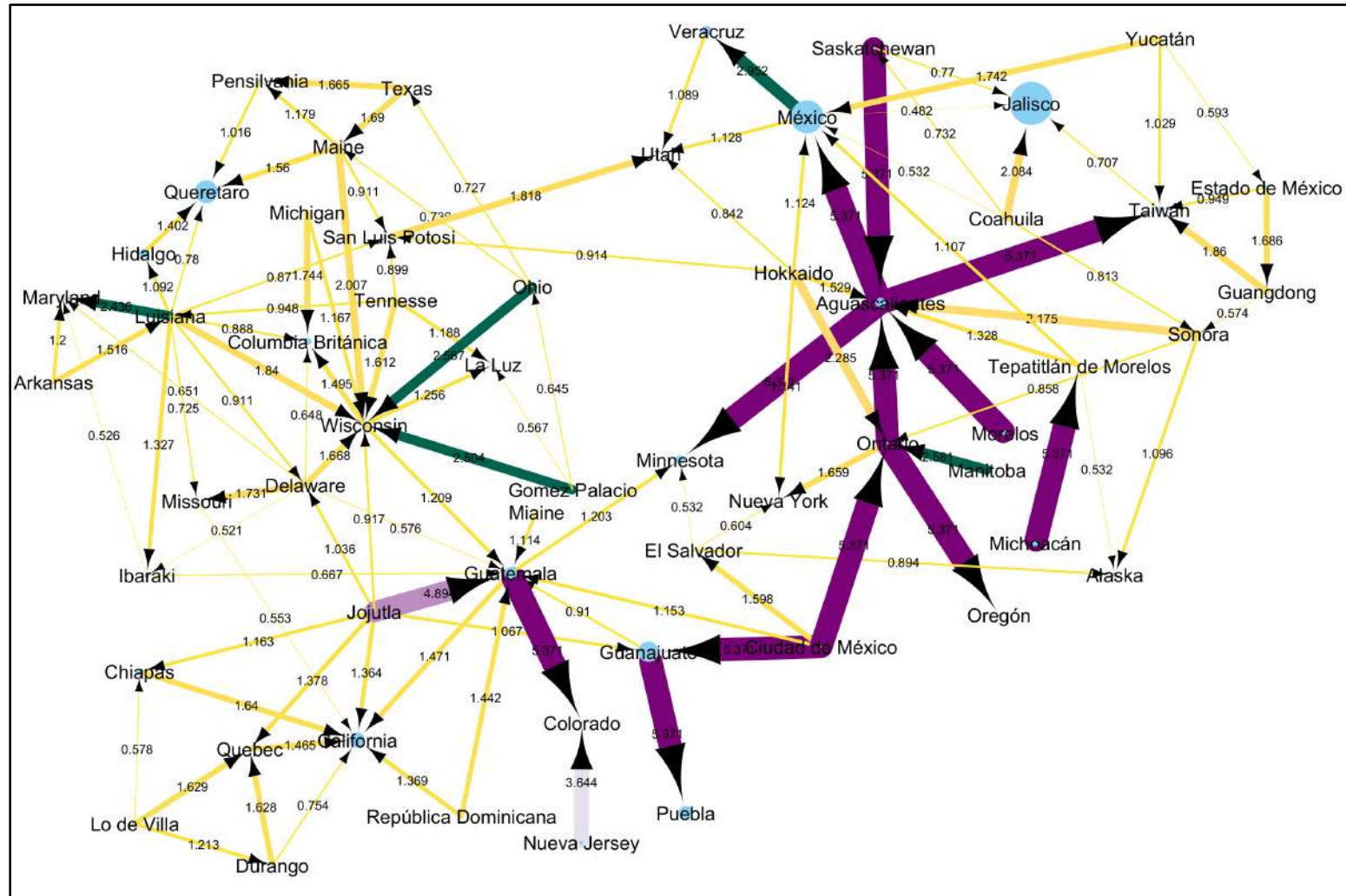
Los brazos representan los saltos evolutivos con base al rasgo de hospedante: Anseriformes doméstico, Anseriformes silvestre, Charadriiformes silvestre, Galliformes doméstico, mamíferos y otras aves.

Anexo III. (Continuación)



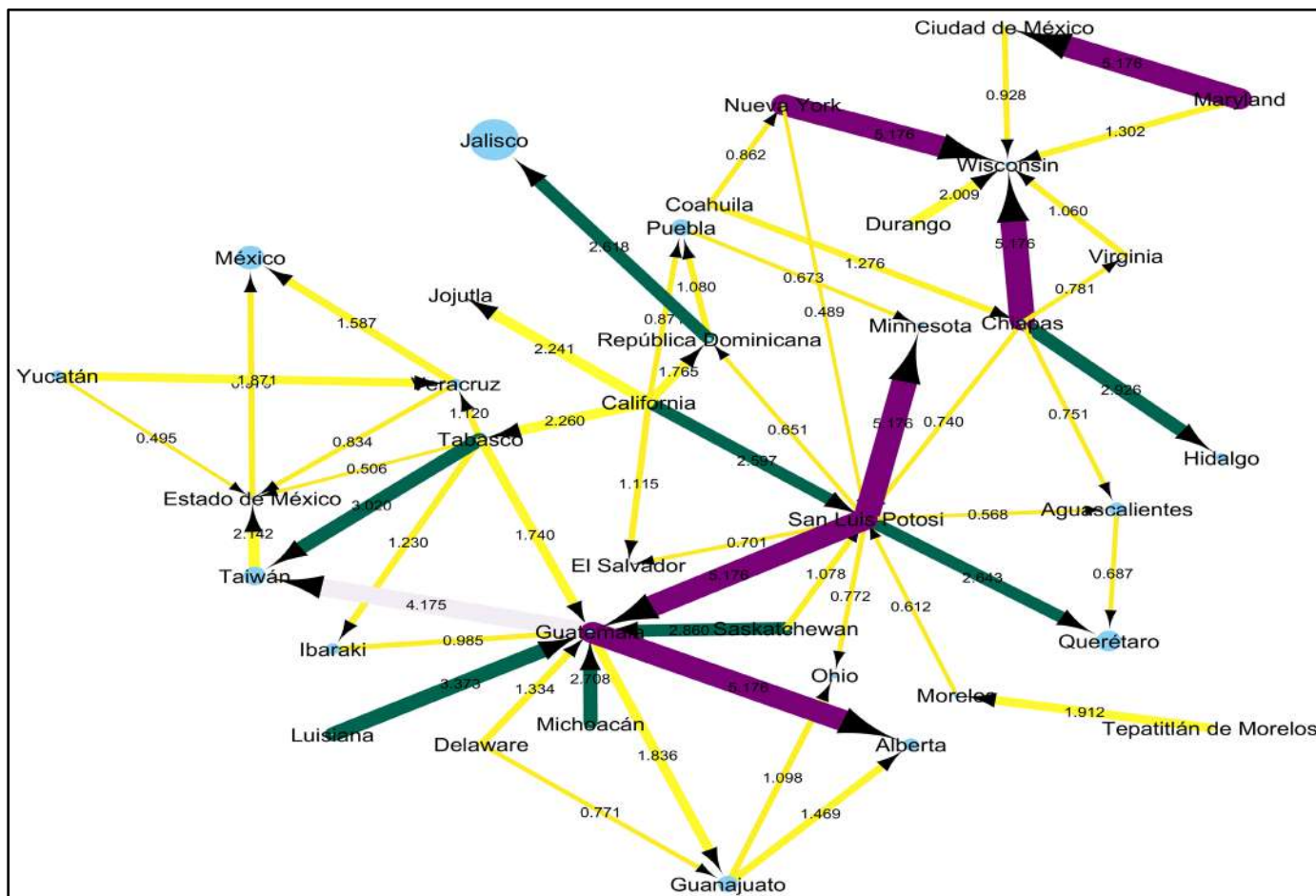
Los brazos representan los saltos evolutivos con base al rasgo de región geográfica conformado por 36 estados y/o provincias de Norte América, Centro América, y Asia Oriental.

Anexo IV. Red de inferencia filogeográfica de la transmisión de H5N2.



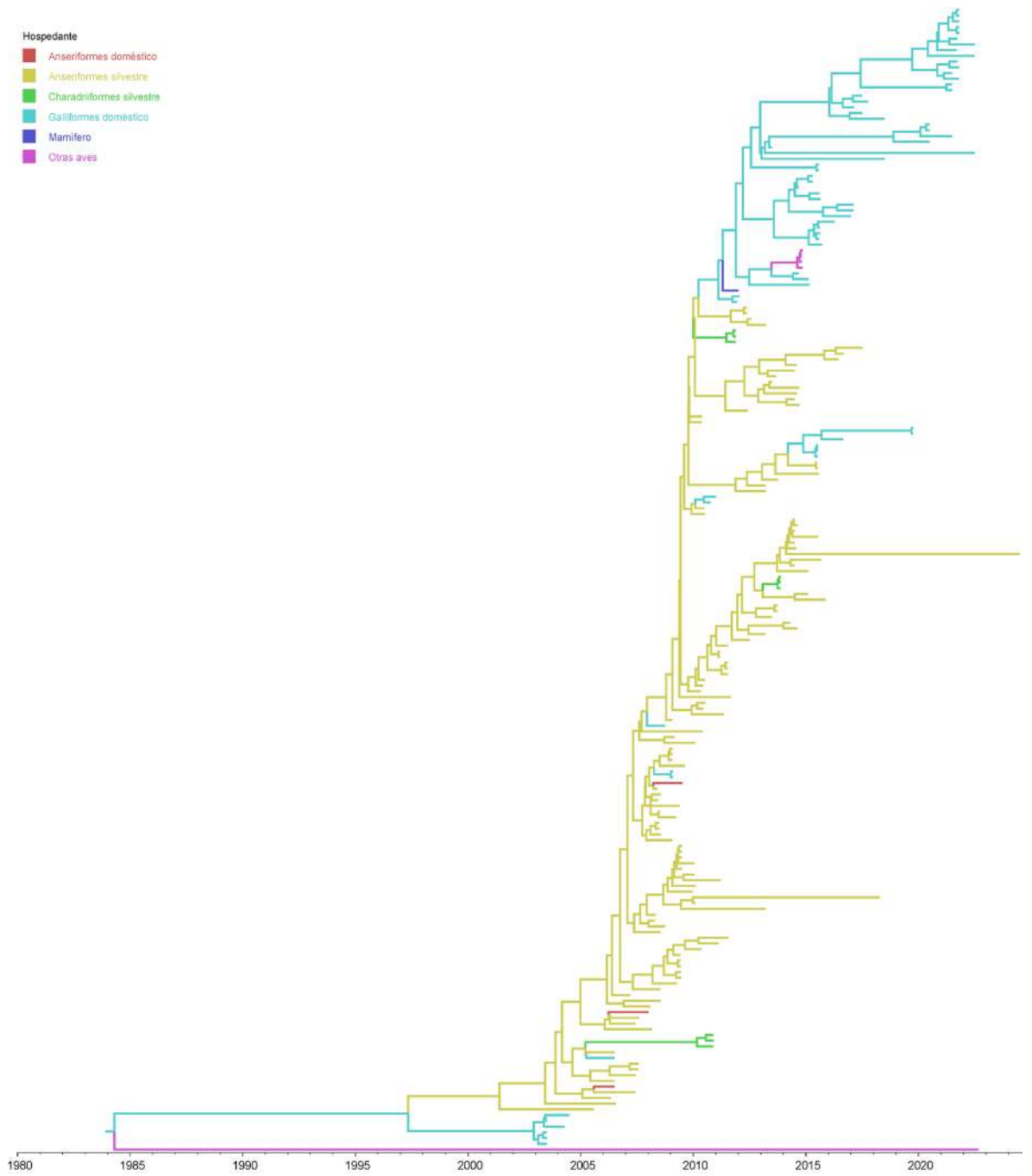
Red de inferencia del segmento HA de H5N2 del linaje mexicano.

Anexo IV. (continuación)

Red de inferencia geográfica del segmento NA de H5N2 de linaje mexicano¹⁵

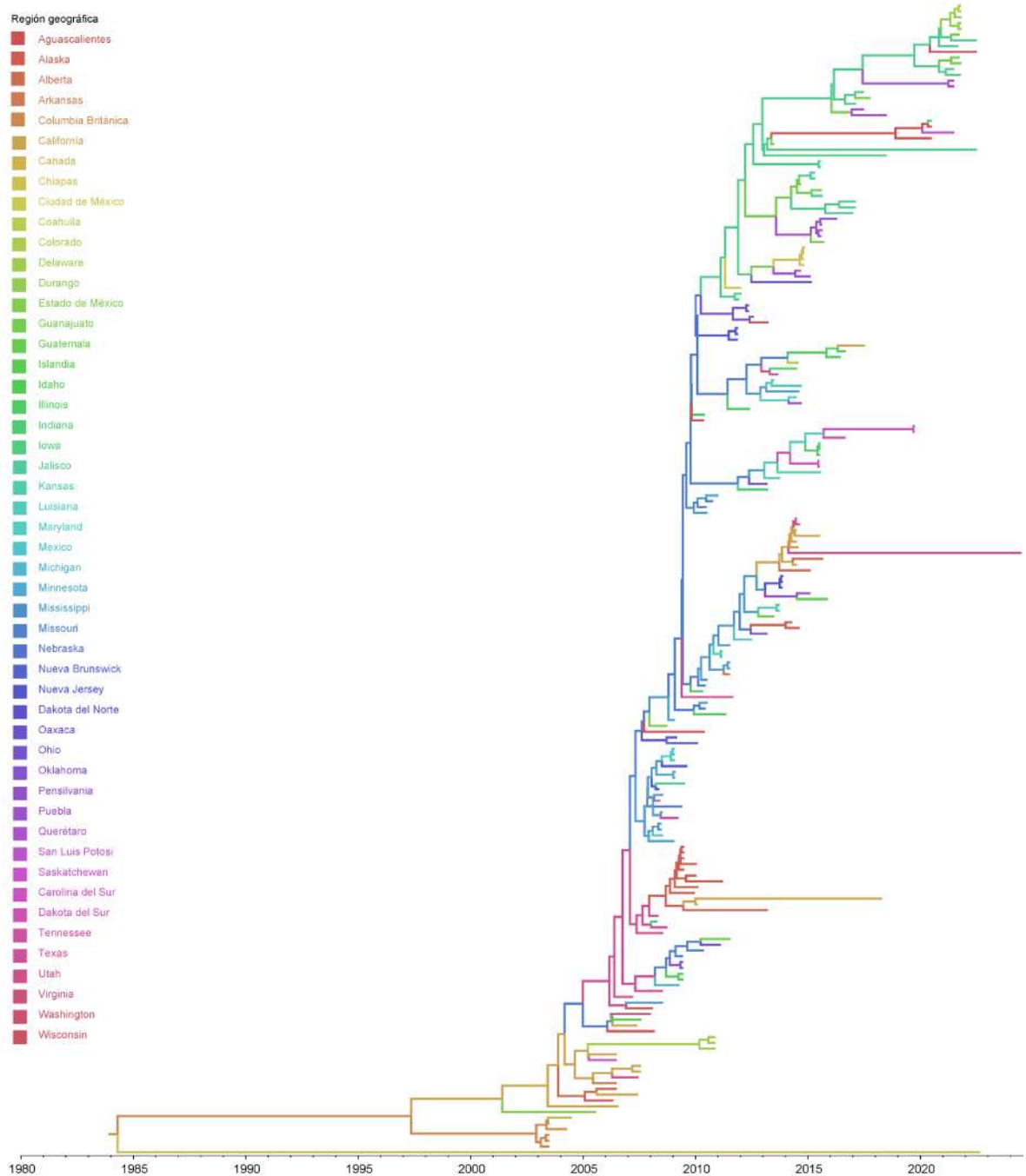
¹⁵ Los ensayos de difusión geográfica fueron estandarizados con flechas que indican la dirección de la diseminación del segmento, un número que establece la tasa del BF10, un nodo es proporcional al número de cepas identificadas en la región geográfica. La línea amarilla representa un soporte BF10 <2.3 (substantial), verde > 2.4 BF10 < 3.4 (fuerte), lila > 3.4 BF10 < 4.61 (muy fuerte), y morado BF10 > 4.61 (decisivo).

Anexo V. Análisis de máxima credibilidad de clado del gen HA de H7N3



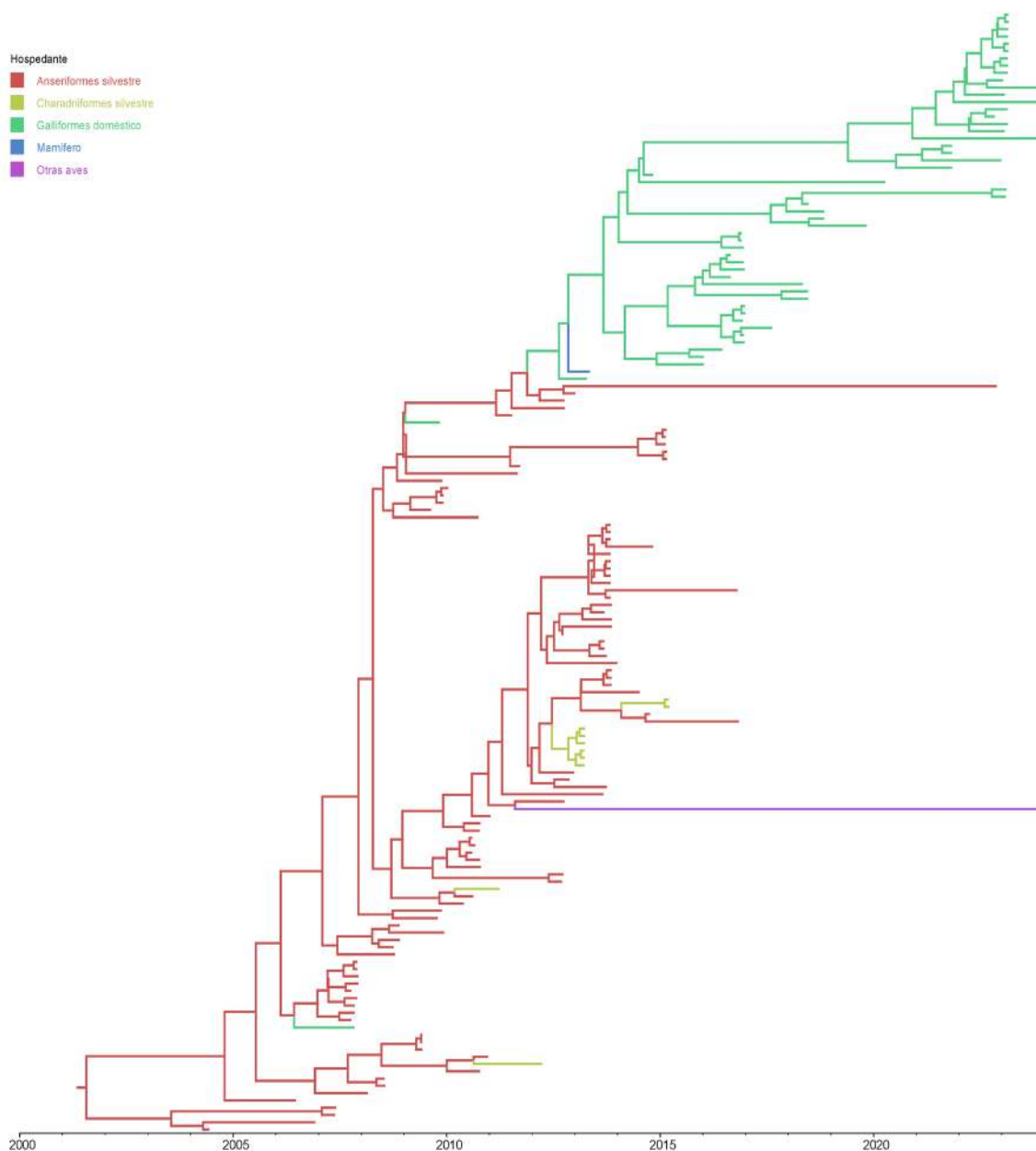
Los brazos representan los saltos evolutivos con base al rasgo de hospedante: Anseriformes doméstico, Anseriformes silvestre, Charadriiformes silvestre, Galliformes doméstico, mamíferos y otras aves.

Anexo V. (Continuación)



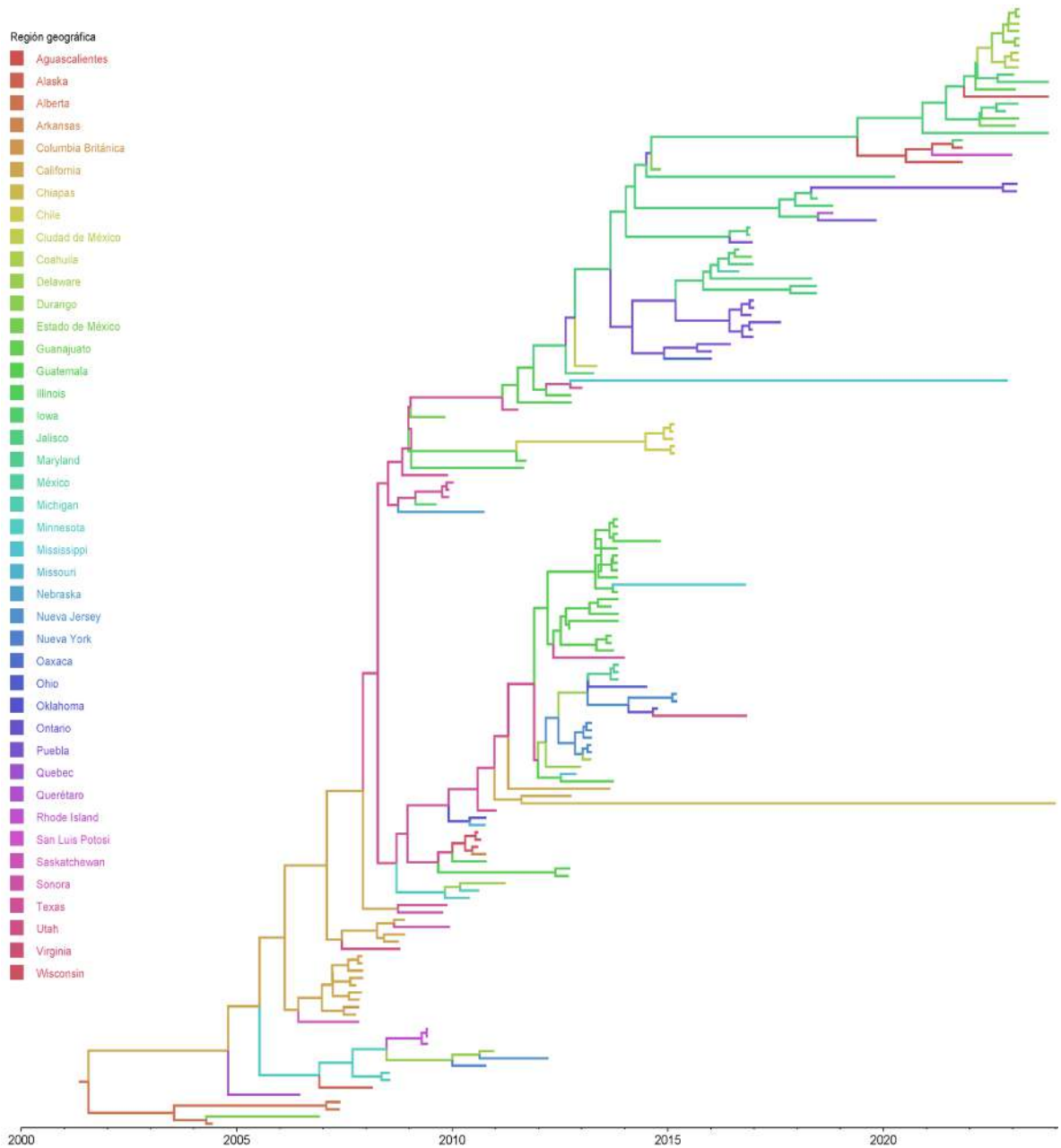
Los brazos representan los saltos evolutivos con base al rasgo de región geográfica conformado por 50 estados y/o provincias de Norte América, Centro América, y Norte de Europa.

Anexo VI. Análisis de máxima credibilidad de clado del gen NA de H7N3



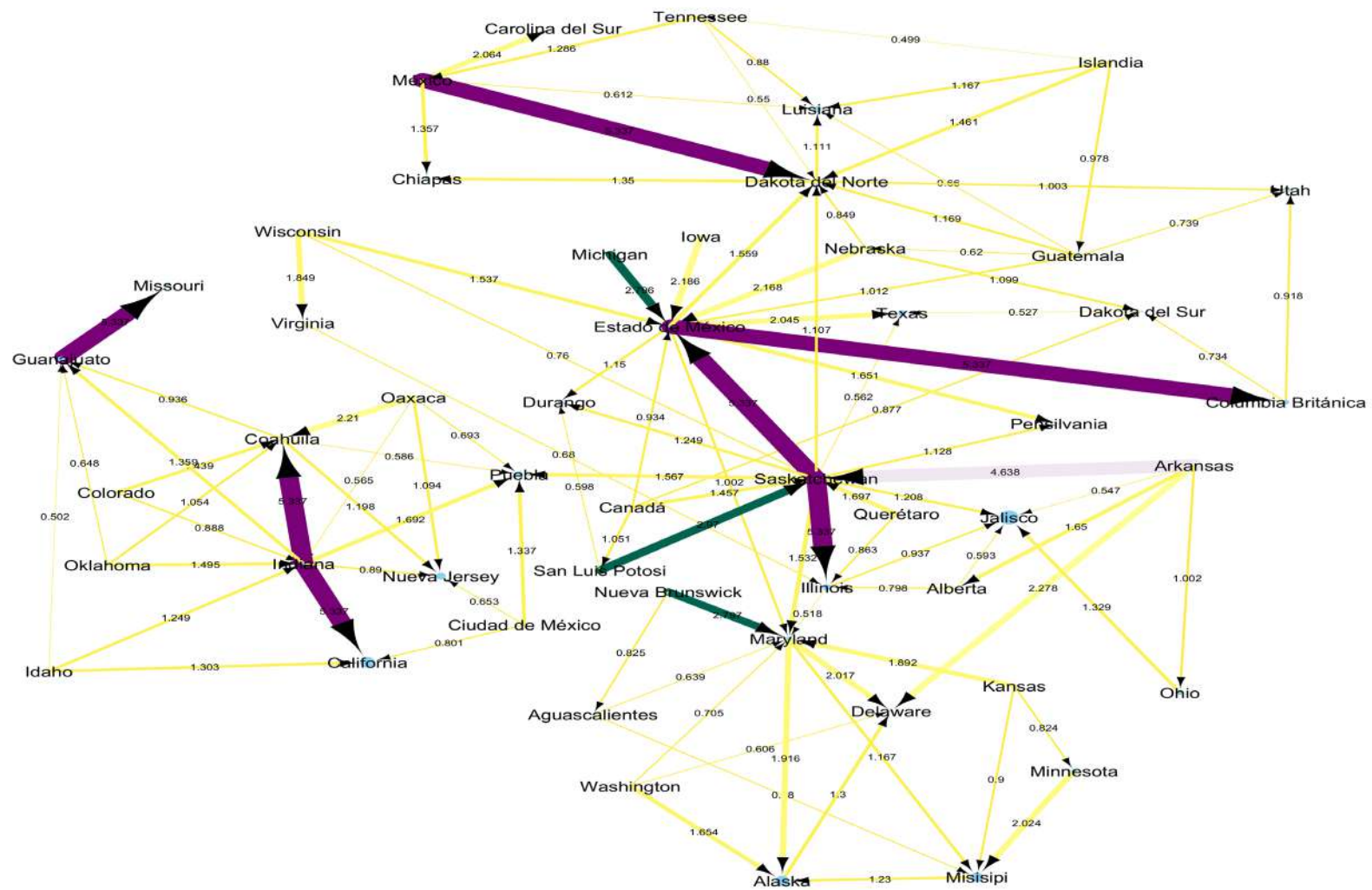
Los brazos representan los saltos evolutivos con base al rasgo de hospedante: Anseriformes silvestre, Charadriiformes silvestre, Galliformes doméstico, mamíferos y otras aves.

Anexo VI. (Continuación)



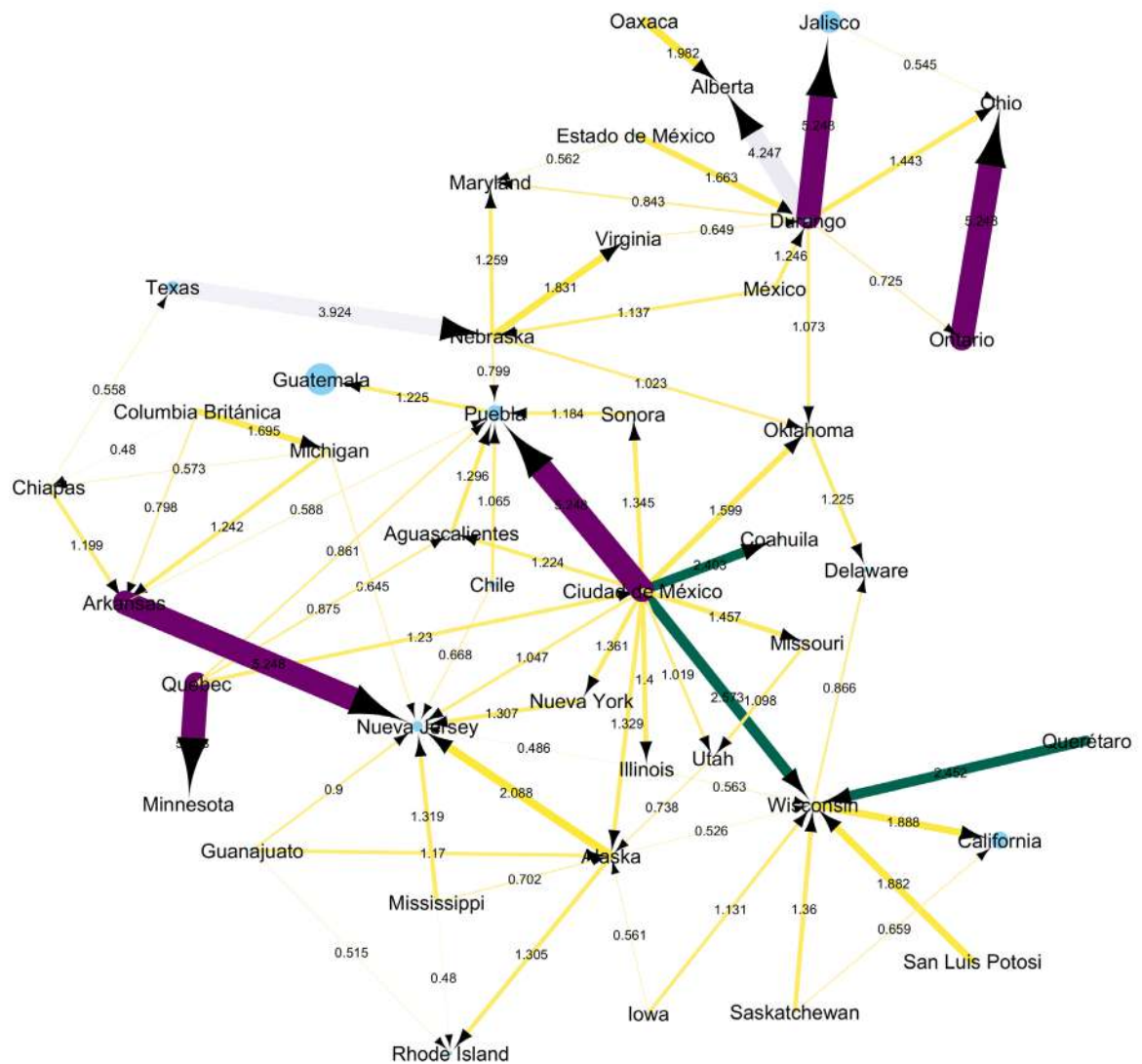
Los brazos representan los saltos evolutivos con base al rasgo de región geográfica conformado por 44 estados y/o provincias de Norte América, Centro América, y Sudamérica.

Anexo VII. Red de inferencia filogeográfica de la transmisión de H7N3.



Red de inferencia geográfica para el gen HA del virus H7N3

Anexo VII. (continuación)



Red de inferencia geográfica para el gen NA del virus H7N3¹⁶

¹⁶ Los ensayos de difusión geográfica fueron estandarizados con flechas que indican la dirección de la diseminación del segmento, un número que establece la tasa del BF₁₀, un nodo proporcional al número de cepas identificadas en la región geográfica. La línea amarilla representa un soporte BF₁₀ < 2.3 (substantial), verde > 2.4 BF₁₀ < 3.4 (fuerte), lila > 3.4 BF₁₀ < 4.61 (muy fuerte), y morado BF₁₀ > 4.61 (decisivo).