

## Aspectos clave, desafíos y oportunidades en el desarrollo de vacunas contra la Influenza aviar

Jennifer Jaramillo-López<sup>1,2</sup>, Romina Rodríguez-Sanoja<sup>1</sup>, Gabriela Gómez Verduzco<sup>3</sup>, Silvia Moreno-Mendieta<sup>1,4\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), A.P. 70228, Ciudad Universitaria, Ciudad de México 04510, México.

<sup>2</sup>Posgrado en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), A.P. 70228, Ciudad Universitaria, Ciudad de México 04510, México

<sup>3</sup>Departamento de medicina y zootecnia de aves, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), A.P. 70228, Ciudad Universitaria, Ciudad de México 04510, México.

<sup>4</sup>Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), Av. Insurgentes Sur 1582, Col. Crédito Constructor, Ciudad de México 03940.

\*[moreno.sa@iibiomedicas.unam.mx](mailto:moreno.sa@iibiomedicas.unam.mx)

### Resumen

El virus de influenza aviar (IA) puede clasificarse como virus de baja o alta patogenicidad; este último es de importancia en Salud Pública ya que es una zoonosis que provoca alta y rápida mortalidad. Si bien hay vacunas comerciales contra esta enfermedad, estas no previenen la infección, sino que disminuyen la mortalidad y reducen la diseminación viral. Estas vacunas son de virus inactivado y enfrentan muchas limitaciones, tales como la incapacidad de proteger si el virus con el que se inmuniza no coincide con el subtipo circulante en campo, la aplicación parenteral, la cual se busca evitar en el contexto de la avicultura comercial y la falta de inducción de respuesta humoral en mucosas. Frente a esta problemática, este artículo analiza aspectos necesarios a considerar para el desarrollo de nuevas vacunas contra esta enfermedad, destacando los retos que impone la propia naturaleza del virus como el ciclo viral en la célula, la respuesta inmune que se desencadena y la posibilidad de conferir protección universal frente a los principales subtipos, así como las oportunidades que ofrece el enfoque racional actual, en lugar del empírico, para el diseño de vacunas de próxima generación, incluidas las vacunas de subunidades y de vectores. Finalmente, este artículo también examina las estrategias para superar las limitaciones de las vacunas disponibles y en desarrollo, como el uso de adyuvantes y plataformas de entrega para mejorar la respuesta inmune.

**Palabras Claves:** *influenza aviar, vacunas de nueva generación, respuesta inmune en aves.*

### Abstract

Avian influenza (AI) virus can be classified as either low-pathogenic or highly pathogenic; the latter is of public health importance because it is a zoonosis that causes high and rapid mortality. While vaccines against this disease are available on the market, they do not prevent infection but rather decrease mortality and reduce viral shedding. These vaccines are inactivated virus vaccines and face many limitations, such as their inability to protect if the virus used for immunization does not match the circulating subtype in the field, their parenteral administration (which is generally avoided in commercial poultry farming), and their lack of induction of a humoral immune response in mucous membranes. In response to this problem, this article addresses essential considerations for the development of new vaccines against this disease, highlighting the challenges posed by the virus itself and the opportunities presented by the current rational, rather than empirical, approach to designing next-generation vaccines, including subunit and vector vaccines. This approach considers fundamental aspects such as the viral cycle within the cell, the resulting immune response, and the potential for conferring universal protection against the main subtypes. This article also examines strategies for overcoming the limitations of available and developing vaccines, such as the use of adjuvants and delivery platforms to enhance the immune response.

**Key Words:** *avian influenza, next-generation vaccines, immune response in birds*

## Introducción

Los virus de influenza aviar (IA) pertenecen a la familia *Orthomyxoviridae*, son de ARN, envueltos, orientados en sentido negativo y con un genoma segmentado en ocho genes, de los cuales destacan los genes que codifican para la Hemaglutinina (HA) y Neuraminidasa (NA), ya que éstas son proteínas ubicadas en la superficie del virión y determinan la clasificación de la IA en subtipos de acuerdo a su combinación, resultando en una amplia variedad de subtipos debido a que se han identificado 16 HA y 9 NA. De acuerdo con su virulencia, la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA), clasifica a los virus en IA de baja patogenicidad (IABP) e IA de alta patogenicidad (IAAP) (OMSA, 2021a).

La infección por IABP en aves suele limitarse al aparato respiratorio y gastrointestinal debido a la afinidad del virus por replicarse en las células epiteliales y, aunque generalmente es una infección asintomática, también puede provocar una manifestación clínica leve o moderada, caracterizada principalmente por caída en la producción de huevos y pérdida de peso (EFSA, 2017). Por otra parte, los virus de IAAP tienden a replicarse de forma sistémica, debido a una mutación en el sitio de ruptura o clivaje de la HA, el cual pasa de ser monobásico a polibásico; en consecuencia, el clivaje (necesario para el ingreso a la células hospedadora) no será realizado solo por la acción de proteasas tipo tripsina (como en el caso de IABP), sino también por enzimas tipo furina (PACE por sus siglas en inglés, "Paired basic Amino acid Cleaving Enzyme"), las cuales están unidas a la membrana de la mayoría de células, favoreciendo la replicación en otros tejidos. Por lo general, la infección por IAAP puede ser tan rápida que provoca la muerte súbita del animal antes de que manifieste signos clínicos (OMSA, 1998). Aunque tanto IAAP como IABP tienen un impacto negativo sobre la producción avícola (representado por caída en la producción, pérdida de ganancia de peso y mortalidad), particularmente la IAAP ha cobrado relevancia debido a que ha infectado mamíferos, incluyendo al ser humano (Gashaw, 2020). Por tal motivo, la implementación de medidas de prevención, entre ellas la vacunación, resulta importante para limitar el impacto de esta enfermedad no solo en la avicultura comercial, sino también en la salud pública.

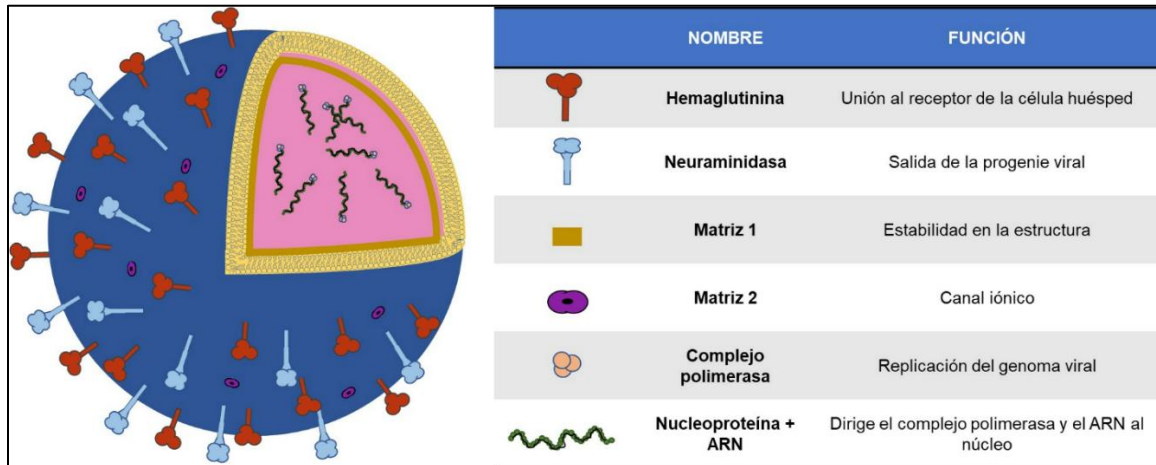
Sin embargo, las vacunas disponibles actualmente no impiden la infección, sino que buscan controlar la enfermedad y evitar la muerte del animal, así como la diseminación del virus que se da a través de secreciones respiratorias u oculares, así como a través de las heces.

Previo al diseño racional de vacunas contra esta enfermedad, es importante considerar aspectos biológicos propios del virus, como la dinámica de infección viral y la respuesta inmune que se desencadena. También es fundamental revisar las ventajas y limitaciones de las vacunas actuales, con el fin de identificar los retos que se deben superar y las oportunidades que se abren para el desarrollo y obtención de nuevas y mejores vacunas.

## Ciclo viral

La HA es la proteína responsable del ingreso a la célula, y aunque se sintetiza en su forma precursora, HA0, su activación se produce por la escisión en HA1 y HA2, gracias a la actividad de proteasas tipo tripsina (presentes en aparato respiratorio y gastrointestinal) o enzimas tipo furina (las cuales se expresan de forma generalizada en distintas células) (Chauhan & Gordon, 2022). La subunidad HA1 del virus de IA tiene afinidad a unirse al ácido siálico unido a galactosa mediante enlaces  $\alpha$ -2,3 (presentes en receptores de las células del aparato respiratorio de las aves), aunque se ha demostrado que mutaciones en esta secuencia pueden modificar la afinidad hacia enlaces  $\alpha$ -2,6, presentes en el aparato respiratorio de los humanos, de esta manera, favoreciendo su infección (AbuBakar et al., 2023).

Una vez que se une al receptor, el virus es endocitado y expuesto al pH ácido del endosoma gracias a la proteína M2, que actúa como canal iónico y permite la acidificación del interior del virión, en consecuencia, la subunidad HA2 expone su péptido de fusión y facilita la unión del virus con la membrana endosomal de la célula infectada, con ello, el complejo ribonucleoproteico (CRNP) viral, que contienen el ARN viral, recubierto por una estructura helicoidal compuesta de nucleoproteína (NP) y un complejo de polimerasas (PB1, PB2 y PA), es liberado dentro de la célula, y aunque la fusión ocurre en la región perinuclear, el transporte hacia el núcleo celular es facilitado por señales de localización nuclear de la NP



**Figura 1.** Estructura del virus de influenza aviar y funciones de las proteínas más relevantes.

(Carter & Iqbal, 2024). En la figura 1 se muestra la estructura del virus y se indican las principales funciones de cada uno de sus componentes.

Dentro del núcleo celular se inician la transcripción y replicación del genoma viral. El CRNP contiene 8 genes que codifican para 10 proteínas esenciales (HA, NA, M1, M2, NP, NS1, NS2, PB1, PB2 y PA). La proteína NS1 ha destacado en el escape a la respuesta inmune contra IA, ya que se ha demostrado que inhibe la producción de IFN- $\alpha$  y  $\beta$  al interferir en las vías de señalización (Jia et al., 2010; Mibayashi et al., 2007). NS1 junto con PB2 pueden inhibir la activación del promotor de IFN- $\beta$  (Liniger et al., 2012), mientras que también se ha demostrado que NS1 y M1 disminuyen la expresión del receptor de IgY en macrófagos (Sun et al., 2024). Finalmente, NS1 también inhibe la apoptosis mediada por la unión Fas-Fas ligando (Xing et al., 2009). Gracias a las polimerasas virales y la ARN polimerasa II del hospedador se conduce a la replicación y transcripción viral, los ARNm virales van desde el núcleo al ribosoma para la traducción, aunque la NP traducida irá al núcleo para proteger al ARN recién sintetizado, protegiéndolo de la degradación, a esto, se unirá el complejo de polimerasas, generando un nuevo CRNP viral. Las proteínas virales y el CRNP se dirigirán a la membrana de la célula hospedadora para la gemación de la progenie viral gracias a la actividad sialidasa de la NA (Carter & Iqbal, 2024; C.-W. Lee & Saif, 2009). Analizar el ciclo de vida del virus es fundamental en el diseño de vacunas, ya que

permite identificar fases determinantes en la interacción del virus con las células del huésped. Conocer la estructura del virus y cómo este ingresa, se replica y se propaga a otras células ayuda a dimensionar cómo se espera que la respuesta inmune inducida por la vacuna se dirija a antígenos claves en la unión a la célula huésped (como HA) o en la salida de los viriones (como NA). Sin embargo, HA y NA son muy susceptibles a mutaciones; en consecuencia, la respuesta inmune inducida por la vacuna será deficiente si esos antígenos mutan, por lo que también es necesario considerar antígenos con secuencias conservadas entre subtipos (y menos susceptibles a mutaciones) como M y NP.

## Respuesta inmune frente a la infección por el virus de IA

En la respuesta inmune innata contra IA destaca la importancia del reconocimiento del virus por receptores de reconocimiento de patrones (RRPs) (Evseev & Magor, 2019). J. Cornelissen et al., 2012 demostraron en pollos un incremento en la expresión de ARNm de TLR3 y TLR7 posterior a la infección con IABP, y aunque aves migratorias (como los patos) tienen el RRP RIG-I y tienen una mejor respuesta protectora contra IA, los pollos no tienen el gen que expresa RIG-I, volviéndolos más susceptibles a la enfermedad; sin embargo, sí hay mayor expresión del receptor MDA5 cuando se infectan con subtipos IABP (J. Cornelissen et al., 2012) o IAAP (Karpala et al., 2011). Tras la activación de los receptores gracias al reconocimiento del ARN viral, inicia la señalización mediada por

moléculas adaptadoras (MyD88 y TRIF en el caso de TLR 3 y 7 y MAVS y STING en el caso de MDA5), que induce la activación de factores de transcripción (IRF7 y NF- $\kappa$ B) para la producción de interferón tipo I (IFN-I) y citocinas proinflamatorias (Hassan & Sharif, 2025).

A las pocas horas post-infección, ya sea con IABP (Karpala et al., 2008) o IAAP (Moulin et al., 2011), se ha demostrado un incremento en la producción de IFN-I, aunque esto es más evidente en la infección con IAAP. Por otra parte, también se ha evidenciado el incremento de IFN- $\gamma$  en los primeros días post-infección (Guan et al., 2015) y se ha demostrado *in vitro* su actividad inhibitoria en la replicación viral en fibroblastos de pollo infectados con IABP H9N2 (Yuk et al., 2016). Además, aunque el IFN- $\lambda$  (un IFN de tipo III) tiene un menor impacto en la respuesta innata contra IA (Masuda et al., 2012), se sugiere que podría tener una actividad importante a nivel de mucosas al retrasar la replicación viral (Reuter et al., 2014). Como resultado de la producción de IFN, se activa una vía de señalización que estimula activadores transcripcionales como ISGF3 y GAF para modular la expresión de genes al unirse a regiones promotoras, entre los genes relacionados con la infección con IA en aves se encuentran: IFIT5 (Rohaim et al., 2018), IFITM3 (Rohaim et al., 2024), IFITM2 (Smith et al., 2015), OASL (Sutejo et al., 2012) y viperina (Goossens et al., 2015).

Además, la IAAP conduce al incremento en la expresión de ARNm de citocinas proinflamatorias como IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-8 en el pulmón (Cornelissen et al., 2013), mientras que la infección por IABP tiene una menor respuesta inflamatoria mediada por citocinas. En el contexto de esta enfermedad, es común escuchar el término “tormenta de citocinas”, el cual hace alusión a la producción desregulada de citocinas que potencian el proceso patológico principalmente en pulmones de las aves infectadas (Gu et al., 2019).

Respecto a la respuesta inmune adaptativa, a los 7 días post-infección con IABP se puede detectar IgY sérica en pollos (Sá e Silva & Swayne, 2012). Respecto a IgA, una inmunoglobulina importante considerando la vía de ingreso del virus, se puede detectar IgA en fluido lagrimal a las 2 semanas post vacunación (Jang et al., 2018). Debido a la rápida mortalidad inducida por la infección con IAAP en pollos, la producción de anticuerpos

específicos se ve impedida. Además, previo a la vacunación es importante considerar la presencia de anticuerpos maternos, los cuales son transferidos al embrión y tienen el propósito de conferir protección mediada por anticuerpos en los pollos tras la eclosión; sin embargo, la vida media promedio de estos anticuerpos es de 4 días (Gharaibeh & Mahmoud, 2013), aunque pueden llegar a proteger tras la eclosión hasta 10 días (Abdelwhab et al., 2012).

Principalmente, la respuesta humoral va dirigida contra epítomos de antígenos como las proteínas de superficie del virus y con alta relevancia en el ciclo viral. Una de las proteínas más importantes y antigénicas es la HA, la cual es responsable del ingreso del virión a la célula. Aunque esta proteína se compone de dos subunidades, la proteína completa induce anticuerpos neutralizantes (Wei et al., 2008), sin embargo; es bien conocido que la secuencia de esta proteína es altamente susceptible a mutaciones que permiten el escape del virus frente a anticuerpos anti-HA neutralizantes, por otra parte, HA2 es más conservada entre los subtipos de IA (J.-S. Lee et al., 2013).

Otra proteína de relevancia es la NA, responsable de la liberación de la progenie viral. Los anticuerpos anti-NA evitan la diseminación viral al impedir la salida de los nuevos viriones (Halbherr et al., 2015); sin embargo, los anticuerpos anti-NA pueden ser menos eficaces frente a IAAP (Capua et al., 2003). Similarmente, anticuerpos anti-M2 interfieren con la liberación del genoma viral en la célula infectada y su secuencia es altamente conservada (Liu et al., 2005); sin embargo, por sí sola puede resultar pobremente inmunogénica (Kalaiyarasu et al., 2021).

Por otra parte, la respuesta inmune mediada por células CD8<sup>+</sup> es importante contra infecciones virales. En el caso de IA, la respuesta CD8<sup>+</sup> está influenciada positivamente tras la infección y alcanza su pico entre 3 y 5 días post-infección (Huang et al., 2012). Seo et al. (2002) sugieren que los linfocitos T CD8<sup>+</sup> de memoria localizados en pulmón son importantes en la protección contra un desafío H5N1. Además, se ha demostrado respuesta CD8<sup>+</sup> contra HA y NP, aunque en mayor medida contra NP (S. Singh et al., 2010).

Entender la respuesta inmune que se genera durante la infección natural con el virus

permite distinguir qué tipo de respuesta adaptativa se buscaría inducir con una vacuna: humoral (anticuerpos que neutralicen el virus y eviten la diseminación), celular (linfocitos T CD8+ que eliminen las células infectadas) o ambas. También es importante identificar cuáles antígenos del virus son más inmunogénicos y protectores, ya que ciertas respuestas inmunes pueden ser menos eficaces o duraderas que otras.

## Tipos de vacunas contra IA

Debido a que no se recomienda el desarrollo de vacunas de virus vivo atenuadas de IAAP por la posibilidad de reversión viral (WOAH, 2021) y debido a que la inoculación con IAAP en huevos embrionados de pollo no es factible ya que provoca muerte embrionaria a las 24 horas (Spackman & Killian, 2014), las vacunas disponibles contra IA están representadas principalmente por vacunas de virus completo inactivado contra IABP. Este tipo de vacunas se fundamenta en la inactivación del virus para inhibir su replicación y usualmente se preparan en emulsión oleosa. Comúnmente, el virus puede ser inactivado por formaldehído o beta-propiolactona (WOAH, 2021), sin embargo, la estructura proteica puede resultar afectada; en consecuencia, se generan modificaciones en la estructura de epítomos de relevancia y esto tiene un impacto negativo sobre la respuesta humoral, aunque se ha determinado que la inactivación con beta-propiolactona resulta más eficaz para inducir una respuesta inmune adaptativa frente a H9N2 en comparación con formaldehído (Tseng et al., 2024). Este tipo de vacunas destaca en la industria debido a su bajo costo de producción.

También, gracias a las técnicas de genética inversa, se han modificado virus IABP, conservando genes que codifican para proteínas no estructurales y reemplazando genes de interés que codifican para HA y NA provenientes de virus IAAP (Bhatia et al., 2016). Similarmente, se generan mutaciones en la secuencia de ciertos genes para favorecer la replicación del virus en huevos embrionados, o que la secuencia de un gen específico se modifique para que sea conservada entre diferentes subtipos (An et al., 2019). Estas vacunas también requieren ser inactivadas previo a la administración en aves.

Por otra parte, también se han generado vacunas vectorizadas, que se fundamentan

en utilizar un vector, ya sea viral o bacteriano con capacidad de replicarse, y que expresa únicamente ciertas proteínas del virus de IA o que inducirá su expresión tras la infección de las células del hospedador (Suarez & Pantin-Jackwood, 2017). Respecto a las vacunas de vector bacteriano, se han usado microorganismos como *Bacillus subtilis* (Z. Li et al., 2024; Mou et al., 2016), *Lactobacillus plantarum* (Z. Li et al., 2024; W.-T. Yang et al., 2017) y *Salmonella entérica* (Hajam et al., 2018) e incluso vectores de levadura como *Saccharomyces cerevisiae* (Lei et al., 2021). Este tipo de vectores recombinantes son modificados para contener la secuencia de un antígeno de IA, y expresarla como proteína, pudiendo conferir protección frente a IA cuando se realiza un desafío. Zhang et al., (2023), también reportaron la inducción de respuesta inmune humoral de tipo IgY e IgA, así como respuesta celular tras la administración oral simultánea de *Saccharomyces cerevisiae* expresando HA en la superficie y de la levadura transformada con plásmidos de ADN y ARN que codificaban para HA.

De forma análoga, se han diseñado también vectores virales que contienen un inserto, que corresponde a un antígeno de IA o una parte de él (Martínez & García, 2007). Estos vectores al infectar a las células del huésped favorecen la síntesis de proteínas del virus, y entre esas proteínas está el antígeno de interés. Las ventajas de este tipo de vacunas son la aplicación directa en mucosas debido al tropismo de los virus por ese tejido, y que no requieren adyuvante ya que al emular la infección natural inducen una respuesta inmune robusta (Alqazlan et al., 2022). Dentro de los vectores virales como vacunas de IA se encuentra el paramyxovirus aviar (Tsunekuni et al., 2017), el virus de la enfermedad de Marek (Fan et al., 2025) y el herpesvirus de pavo (Li et al., 2011); sin embargo, entre los vectores virales disponibles el virus de Newcastle (NDV) destaca, debido a que se ha insertado el gen HA5 en su secuencia y puede ofrecer protección tanto para IA como para NDV (Veits et al., 2006). Estos sistemas no solo inducen la expresión de proteínas en el hospedador, sino que también se las puede administrar directamente sin necesidad de un vector.

Las vacunas de proteína recombinante pueden producirse en sistemas de expresión heterólogos y purificarse para ser

# Artículos

administradas vía parenteral, aunque requieren el uso de adyuvantes para aumentar su inmunogenicidad (Alqazlan et al., 2022). Estas vacunas destacan gracias a la posibilidad de generar secuencias consenso a partir de alineamientos de secuencias conservadas de antígenos de IA y que induzcan una respuesta inmune humoral contra varios subtipos (Wu et al., 2017), o que las secuencias contengan epítomos de linfocitos T para inducir una respuesta inmune adaptativa celular (Haghighi et al., 2009). Además, pueden permitir la diferenciación entre animales vacunados e infectados (Pose et al., 2015).

Recientemente, se han evaluado partículas tipo virus (por sus siglas en inglés, VLP) con

antígenos de superficie de IA como HA, NA, M1 y N1 generadas con el sistema de expresión baculovirus (células de insecto), las cuales demostraron buena protección frente a un desafío con H5N1 (Kang et al., 2019; Tao et al., 2009). También se han probado en aves vacunas de ADN que se enfocan en secuencias consenso de HA para inducir anticuerpos neutralizantes, aunque la respuesta es dosis dependiente (Rao et al., 2008).

En México las vacunas disponibles son principalmente de virus inactivados emulsionados y recombinantes vectorizadas tal como se resume en la tabla 1, y en la figura 2 se resumen las plataformas para la obtención de las vacunas contra IA.

**Tabla 1.** Vacunas contra influenza aviar disponibles en México

Nombre	Casa comercial	Tipo de vacuna	Vía de aplicación	Subtipo	Indicaciones	Referencia
Vaxigen® Flu H5N8 Clade 2.3.4.4	Avimex	Inactivada (Genética reversa)	SC o IM	H5N8	Desde las cuatro semanas de edad, revacunar entre 21-28 días después de la primera dosis	<a href="https://avimex.com.mx/productos/aves/vaxigen-flu-h5n8-clade-2344?product_category=vacunas">https://avimex.com.mx/productos/aves/vaxigen-flu-h5n8-clade-2344?product_category=vacunas</a>
Vaxigen Flu H7	Avimex	Inactivada (Genética reversa)	NR	H7N3	NR	<a href="https://avimex.com.mx/productos/aves/vaxigen-flu-h7?product_category=vacunas">https://avimex.com.mx/productos/aves/vaxigen-flu-h7?product_category=vacunas</a>
Vaxigen K-newH5	Avimex	Vectorizada	SC o IM	H5	NR	<a href="https://avimex.com.mx/productos/aves/vaxigen-k-newh5?product_category=vacunas">https://avimex.com.mx/productos/aves/vaxigen-k-newh5?product_category=vacunas</a>
Newcastle influenza concentrada	Avimex	Inactivada	NR	NR	NR	<a href="https://avimex.com.mx/productos/aves/newcastle-influenza-concentrada-vacuna-emulsionada?product_category=vacunas">https://avimex.com.mx/productos/aves/newcastle-influenza-concentrada-vacuna-emulsionada?product_category=vacunas</a>
Influenza aviar concentrada	Avimex	Inactivada	NR	NR	NR	<a href="https://avimex.com.mx/productos/aves/influenza-aviar-concentrada-vacuna-emulsionada?product_category=vacunas">https://avimex.com.mx/productos/aves/influenza-aviar-concentrada-vacuna-emulsionada?product_category=vacunas</a>
Vaxigen newH5 congelada	Avimex	Vectorizada	Ocular, oral y aspersión	H5	Dos dosis con 10 a 15 días de diferencia entre ellas en pollo de engorda, 3 aplicaciones en aves de reemplazo y cada 4 a 12 semanas en gallinas en producción	<a href="https://avimex.com.mx/productos/aves/vaxigen-newh5-congelada?product_category=vacunas">https://avimex.com.mx/productos/aves/vaxigen-newh5-congelada?product_category=vacunas</a>
Emulmax® GR7	Sanfer	Inactivada	SC	H7N3	Aplicar entre los 8-10 días de edad, aplicar mínimo dos refuerzos en ponedoras y reproductoras antes de la postura	<a href="https://sanfersaludanimal.com/productos/emulmax-gr7">https://sanfersaludanimal.com/productos/emulmax-gr7</a>
Emulmax® AI + ND	Sanfer	Inactivada	SC	H5N2	Aplicar entre los 8-10 días de edad, aplicar refuerzo en ponedoras y reproductoras 10 semanas después	<a href="https://sanfersaludanimal.com/productos/emulmax-aind">https://sanfersaludanimal.com/productos/emulmax-aind</a>
Emulmax® – C AI + N5 G15	Sanfer	Inactivada	SC	H5N2	Aplicar a partir del día de edad en pollo de engorda, ponedoras y reproductoras, revacunar a ponedoras y reproductoras 10 semanas después	<a href="https://sanfersaludanimal.com/productos/emulmax-c-ai-n5-g15">https://sanfersaludanimal.com/productos/emulmax-c-ai-n5-g15</a>
Emulmax® – C AI	Sanfer	Inactivada	SC	H5N2	NR	<a href="https://sanfersaludanimal.com/productos/emulmax-c-ai">https://sanfersaludanimal.com/productos/emulmax-c-ai</a>

# Artículos

AVILAB® I.A. PLUS CONCENTRADA	Avilab	Inactivada	SC	H5N2	Se puede aplicar desde el primer día de edad en aves de engorda y postura y revacunación de acuerdo al criterio del médico veterinario	<a href="https://avilab.com.mx/es/productos/i-a-plus-concentrada">https://avilab.com.mx/es/productos/i-a-plus-concentrada</a>
AVILAB® I.A. PLUS	Avilab	Inactivada	SC	H5N2	Aplicar una dosis entre los 8-10 días de edad y en ponedoras y reproductoras aplicar refuerzo 10 semanas después	<a href="https://avilab.com.mx/en/productos/gallina-i-a-plus">https://avilab.com.mx/en/productos/gallina-i-a-plus</a>
AVILAB® REVGEN H7N3	Avilab	Inactivada (Genética reversa)	SC	H7N3	Administrar a partir de las 3-4 semanas de edad y revacunación de acuerdo al criterio del médico veterinario	<a href="https://avilab.com.mx/ajax/producto/20">https://avilab.com.mx/ajax/producto/20</a>
Vectormune® H7	Ceva	Vectorizada (virus de Marek)	SC o <i>in ovo</i>	H7	Una dosis al día de edad	<a href="https://avicultura.ceva.com.mx/products/vectormune-h7/">https://avicultura.ceva.com.mx/products/vectormune-h7/</a>
Vectormune® HVT AIV	Ceva	Vectorizada (virus de Marek)	SC o <i>in ovo</i>	H5	Una dosis en embrión de pollo o una dosis al día de edad	<a href="https://www.ceva.com.mx/Especies-y-Productos/Listado-de-Productos/VECTORMUNE-R-HVT-AIV">https://www.ceva.com.mx/Especies-y-Productos/Listado-de-Productos/VECTORMUNE-R-HVT-AIV</a>
Cevac® FLU H7 K	Ceva	Inactivada	SC	H7N3	Para uso en naves de función reproductora, de postura y de engorda a partir del día de edad	<a href="https://www.avicultura.mx/productos/flu-h7-k">https://www.avicultura.mx/productos/flu-h7-k</a>
<a href="https://www.boehringer-ingelheim.com/sa/salud-animal/productos/volvac-best-ai-nd">VOLVAC® B.E.S.T AI+ ND</a>	Boehringer Ingelheim	Inactivada (expresada en baculovirus)	SC	H5	Una dosis a partir del día 10 de edad	<a href="https://www.boehringer-ingelheim.com/sa/salud-animal/productos/volvac-best-ai-nd">https://www.boehringer-ingelheim.com/sa/salud-animal/productos/volvac-best-ai-nd</a>
NOBILIS® Influenza H5N2	MSD	Inactivada	SC o IM	H5N2	Aplicar una dosis entre el día 8-10 de edad. Para aves de reemplazo y reproductoras aplicar refuerzo a las 6-10 semanas.	<a href="https://www.msdsalud-animal.mx/productos/nobilis-influenza-h5n2/">https://www.msdsalud-animal.mx/productos/nobilis-influenza-h5n2/</a>

\*NR: No reportado por la casa comercial

\*SC: Subcutánea

\*IM: Intramuscular

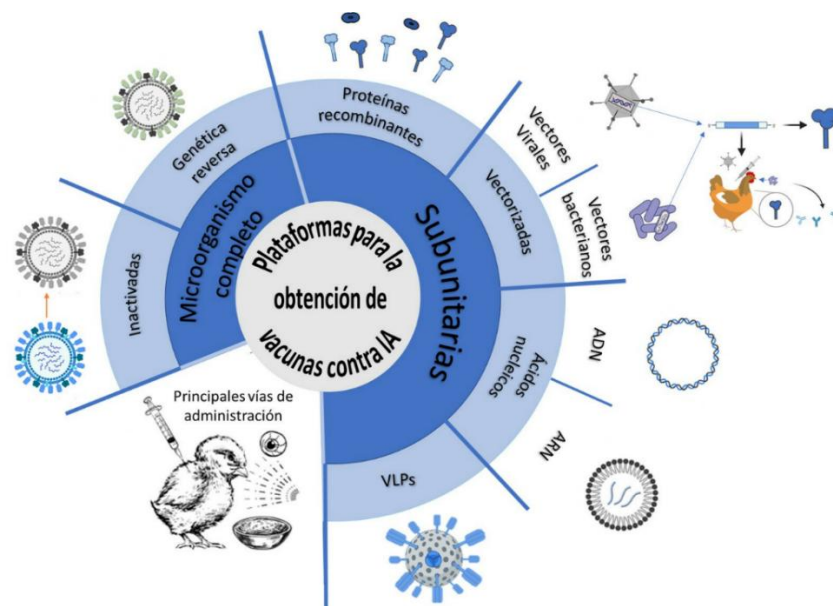


Figura 2. Plataformas de obtención de vacunas contra influenza aviaria y principales vías de aplicación en aves.

## Desafíos que enfrentan las vacunas actuales

A pesar de que las vacunas inactivadas son las más utilizadas en la avicultura comercial debido a su bajo costo y protocolo estandarizado de producción, pueden tener una eficacia protectora variable ya que durante su producción puede ocurrir la alteración estructural de proteínas que son relevantes para la inducción de la respuesta inmune, como es el caso de los epítomos altamente inmunogénicos (Herrera-Rodríguez et al., 2019). Aunado a esto, su aplicación es parenteral y se requiere de la aplicación de refuerzos para mantener un título de anticuerpos adecuado durante la vida del animal, condiciones poco compatibles con el sistema de producción intensivo característico de la industria avícola (Alqazlan et al., 2022). Además, este tipo de vacunas no presentan propiedades DIVA (que permiten la diferenciación entre animales vacunados e infectados), condición que se busca cumplir con las vacunas de nueva generación.

Por otro lado, aunque las vacunas vectorizadas pueden ser aplicadas vía mucosa (generando inmunidad en mucosas, ideal considerando la vía de entrada del virus), *in ovo* o vía SC y cumplen con el enfoque DIVA, se enfrentan a una limitación: la inmunidad que pueden tener las aves frente al vector o la interferencia dada por anticuerpos maternos pueden comprometer seriamente la eficacia de la vacuna (Bertran et al., 2018), especialmente cuando se trata de vectores virales como NDV, mientras que en el caso de vectores bacterianos se requieren varios refuerzos de la vacuna cuando se administra por vía oral (Sha et al., 2020).

Respecto a las vacunas de proteína recombinante, son una alternativa segura y que pueden generar inmunidad cruzada contra varios subtipos cuando se administran proteínas conservadas como la proteína M (Ebrahimi et al., 2010) o proteínas provenientes de secuencias consenso (generadas a partir del alineamiento de varias secuencias de HA), además su aplicación no implica la excreción de partículas virales tras la inmunización (Hyoung et al., 2017). No obstante, presentan otras desventajas como pobre inmunogenicidad y estabilidad, además se deben considerar las modificaciones post-traduccionales previo a la elección del sistema de expresión y los costos que acarrea su

producción y purificación que son más altos en comparación con otro tipo de vacunas.

Finalmente, aunque su administración vía mucosa es posible, se requiere el uso de adyuvantes o sistemas de entrega para evitar la degradación por proteasas presentes en secreciones o la eliminación por el aclaramiento propio de la cavidad nasal u ocular (Tetsutani & Ishii, 2012). Esto último también aplica para las vacunas de DNA o RNA.

Finalmente, un desafío importante al que se enfrenta toda vacuna contra IA es la pérdida de la eficacia cuando la HA de la vacuna es antigénicamente distante a la HA del virus de campo, esto ocurre con frecuencia debido a que el virus de IA se caracteriza por una alta tasa de mutación, debido a su genoma segmentado cada gen puede mutar independientemente o combinarse con los genes de otro virus de IA si hay dos virus infectando una misma célula (Causey & Edwards, 2008). Se ha demostrado que la mutación en ciertos aminoácidos puede favorecer el escape del virus frente a la inmunidad generada por vacunas (Zhu et al., 2022). Este problema limita el desarrollo de una vacuna universal contra la IA no solo en aves, sino también en humanos.

## Estrategias para enfrentar los desafíos

Considerando la capacidad de mutación del virus de IA, se ha propuesto la selección de regiones conservadas en proteínas de relevancia en el virus, como HA, para alinear sus secuencias y generar secuencias consenso, con mayor probabilidad de brindar protección cruzada contra varios virus heterólogos (Hyoung et al., 2017), aunque la secuencia de HA de la vacuna no tenga alta similitud con la proteína del virus de campo o desafío. La tendencia en diseño de vacunas apunta también a seleccionar no sólo proteínas antigénicamente relevantes, sino proteínas conservadas entre subtipos, que aunque pueden ser menos inmunogénicas (como M2e, NP y HA2), en combinación pueden potenciar la respuesta inmune (Kalaiyarasu et al., 2021; Kang et al., 2019; Q.-Y. Li et al., 2020). Asimismo, con el objetivo de mejorar la producción de vacunas inactivadas modificadas mediante genética reversa, se pueden alterar las secuencias de HA y NA en

virus de IA para mejorar la replicación viral en huevos embrionados (An et al., 2019).

También, es fundamental dirigir el diseño de vacunas hacia la implementación de la estrategia DIVA. Al momento, las vacunas que se basan en vector satisfacen esta necesidad, pues solo inducen la expresión de determinadas proteínas de interés en las células infectadas, y no se genera respuesta humoral contra otras proteínas del virus de IA ya que están ausentes en el inmunógeno, pero que si estarían presentes en la infección natural (Li et al., 2011). De forma similar, mediante el uso de herramientas bioinformáticas, se pueden diseñar *in silico* proteínas recombinantes para que contengan epítomos específicos de cada antígeno, en lugar de la proteína completa (Herrera-Ong, 2023). Además, la selección de epítomos puede favorecer la inducción de una respuesta inmune celular mediada por linfocitos T CD8+, y no solo una respuesta inmune mediada por anticuerpos (Haghighi et al., 2009). A su vez, se pueden agregar insertos a las secuencias que codifiquen para marcadores positivos como el epítomo TET (derivado de la secuencia de la toxina tetánica de *Clostridium tetani*) (Herrera-Ong, 2023), de tal manera que tras la expresión e inmunización con la proteína se genere una respuesta contra esas secuencias no presentes en una infección con IA.

Cuando se administran antígenos poco inmunogénicos, resulta beneficioso usar adyuvantes que activen y modulen la respuesta inmune, ya sea innata o adaptativa. Tal como lo observaron Tabyenov et al. 2025, que al administrar por vía SC una combinación de un virus H5N8 modificado mediante genética reversa con adyuvantes oleosos como ISA-78 o ISA-71-R lograron aumentar la supervivencia, disminuir la excreción viral y las lesiones en pulmón e hígado luego de desafiar a los animales con IAAP (Tabyenov et al., 2025).

Ligandos de receptores de PAMPs facilitan el reconocimiento del antígeno y con ello la inducción de la respuesta innata y adaptativa, ligandos de TLRs como Pam3CSK4 (St. Paul et al., 2014) y CpG ODN 2007 mejoran la respuesta humoral al combinarse con vacunas inactivadas, aunque incluso este último puede favorecer la respuesta inmune

celular al aumentar los niveles de IFN (Mallick et al., 2012). Incluso se ha reportado que al administrar Pam2CSK4 o poli I:C por una vía mucosa, como la ocular, favorece la producción de interleucinas como IL-1B (Takaki et al., 2016). También se ha reportado que la combinación de una IL-2 recombinante con una vacuna inactivada de IA administrada vía intranasal mejora la respuesta humoral (Xiaowen et al., 2009), aunque se puede obtener una respuesta similar si la secuencia de la citocina está fusionada con el antígeno (Yang et al., 2009).

Finalmente, es importante considerar plataformas de liberación de antígenos. Entre estas plataformas se encuentran las nano- y micropartículas poliméricas. Tal es el caso de nanopartículas de PLGA, que han demostrado un incremento de la respuesta IgY e IgA al combinarse con una vacuna inactivada y un ligando como CpG ODN 2007 (Singh et al., 2016). Liposomas, que favorecen una liberación controlada del antígeno y resultan de particular interés para la administración vía mucosa, ya que extienden la presencia del antígeno en el sitio de administración, y en consecuencia, su reconocimiento (Chiou et al., 2009). Los virosomas pueden ingresar a las células y al tener antígenos como HA y NA en la superficie favorecen la presentación antigénica y con ello su procesamiento, induciendo la activación de linfocitos T CD8+ (Bungener et al., 2002). En la figura 3 se resumen las estrategias biotecnológicas disponibles para superar las desventajas de las vacunas actuales contra la IA.

## Conclusiones y perspectivas

La IA se mantiene como una de las enfermedades virales más desafiantes para la avicultura y como una amenaza para la salud pública por su potencial zoonótico. Aunque hay vacunas disponibles contra esta enfermedad, éstas presentan limitantes importantes como la mutación constante del virus (que favorece su escape de la respuesta inmune) y la vía de aplicación que es prioritariamente la parenteral para lograr una inducción de respuesta inmune sistémica. Esto implica una variabilidad en la eficacia protectora y poca o nula inducción de respuesta humoral de tipo IgA (la cual es muy importante debido a que el ingreso del virus es por vía mucosa).

# Artículos

No obstante, enfoques innovadores apuestan principalmente al uso de vectores virales y vacunas de subunidad proteica diseñados racionalmente a partir de las secuencias codificantes de todas las proteínas del virus, no solo las inmunodominantes sino las conservadas, que formuladas con adyuvantes seguros para uso por las vías mucosas permitan la inducción de respuesta inmune antigénica específica, con mínimos riesgos

para el animal y el personal que vacuna. Lograr un balance entre costo, seguridad y eficacia sigue siendo desafiante, pero las probabilidades de obtener vacunas con menos limitaciones que las vacunas actuales aumentan conforme hay más y mejores herramientas bioinformáticas y biotecnológicas disponibles para su diseño y obtención.

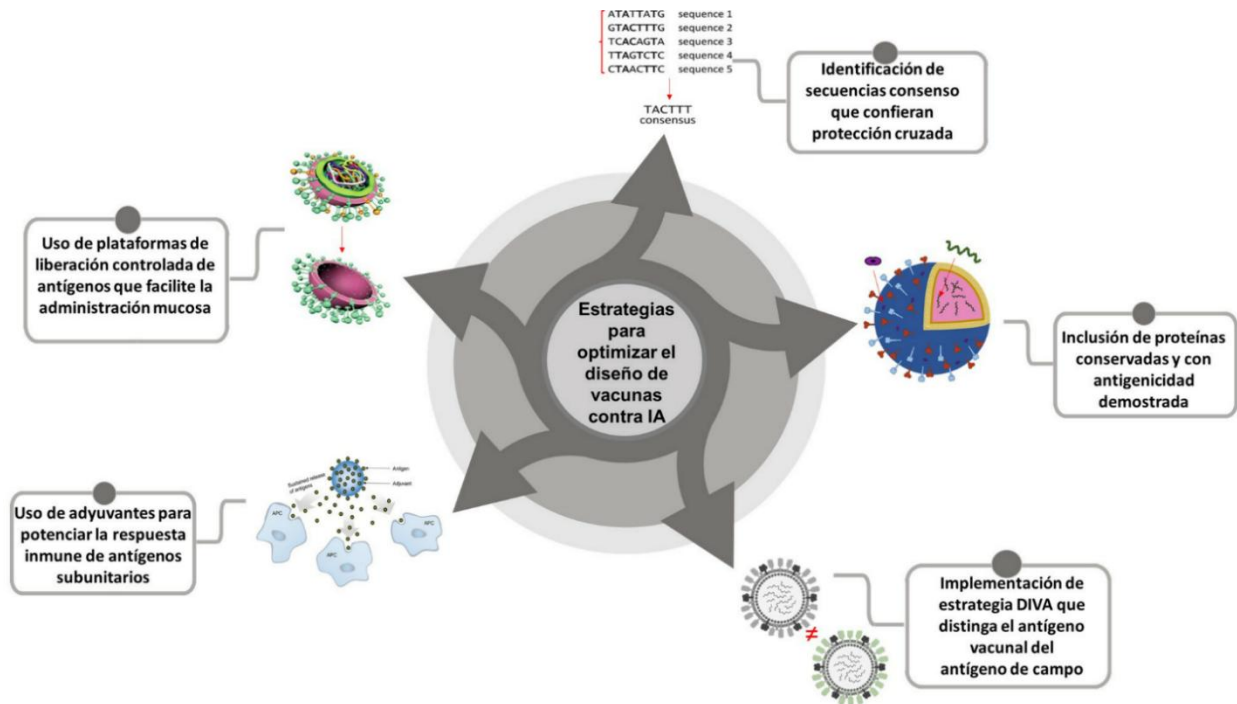


Figura 3. Estrategias disponibles para superar las desventajas de las vacunas actuales contra influenza aviar.

## Referencias

Abdelwhab, E. M., Grund, C., Aly, M. M., Beer, M., Harder, T. C., & Hafez, H. M (2012) Influence of maternal immunity on vaccine efficacy and susceptibility of one day old chicks against Egyptian highly pathogenic avian influenza H5N1. *Veterinary Microbiology*, 155(1), 13–20.

AbuBakar, U., Amrani, L., Kamarulzaman, F. A., Karsani, S. A., Hassandarvish, P., & Khairat, J. E. (2023). Avian influenza virus tropism in humans. *Viruses*, 15(4), 833.

Alqazlan, N., Astill, J., Raj, S., & Sharif, S (2022) Strategies for enhancing immunity against avian influenza virus in chickens: A review. *Avian Pathology*, 51(3), 211–235.

An, S.-H., Lee, C.-Y., Hong, S.-M., Choi, J.-G., Lee, Y.-J., Jeong, J.-H., Kim, J.-B., Song, C.-S., Kim, J.-H., & Kwon, H.-J (2019) Bioengineering a highly productive vaccine strain in embryonated chicken eggs and mammals from a non-pathogenic clade 2·3·4·4 H5N8 strain. *Vaccine*, 37(42), 6154–6161.

Bertran, K., Lee, D.-H., Criado, M. F., Balzli, C. L., Killmaster, L. F., Kapczynski, D. R., & Swayne, D. E (2018) Maternal antibody inhibition of recombinant Newcastle disease virus vectored vaccine in a primary or booster avian influenza vaccination program of broiler chickens. *Vaccine*, 36(43), 6361–6372.

Bungener, L., Huckriede, A., Wilschut, J., & Daemen, T (2002) Delivery of protein antigens to the immune system by fusion-active

virosomes: a comparison with liposomes and ISCOMs. *Bioscience Reports*, 22(2), 323–338.

Capua, I., Terregino, C., Cattoli, G., Mutinelli, F., & Rodriguez, J. F. (2003) Development of a DIVA (Differentiating Infected from Vaccinated Animals) strategy using a vaccine containing a heterologous neuraminidase for the control of avian influenza. *Avian Pathology*, 32(1), 47–55.

Carter, T., & Iqbal, M. (2024) The influenza A virus replication cycle: a comprehensive review. *Viruses*, 16(2), 316.

Causey, D., & Edwards, S. V. (2008) Ecology of avian influenza virus in birds. *The Journal of Infectious Diseases*, 197(Supplement\_1), S29–S33.

Chauhan, R. P., & 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.

Chiou, C.-J., Tseng, L.-P., Deng, M.-C., Jiang, P.-R., Tasi, S.-L., Chung, T.-W., Huang, Y.-Y., & Liu, D.-Z. (2009) Mucoadhesive liposomes for intranasal immunization with an avian influenza virus vaccine in chickens. *Biomaterials*, 30(29), 5862–5868.

Cornelissen, J. B. W. J., Vervelde, L., Post, J., & Rebel, J. M. J. (2013) Differences in highly pathogenic avian influenza viral pathogenesis and associated early inflammatory response in chickens and ducks. *Avian Pathology*, 42(4), 347–364.

Cornelissen, J., Post, J., Peeters, B., Vervelde, L., & Rebel, J. M. J. (2012) Differential innate responses of chickens and ducks to low-pathogenic avian influenza. *Avian Pathology*, 41(6), 519–529.

Ebrahimi, S. M., Tebianian, M., Aghaiypour, K., Nili, H., & Mirjalili, A. (2010) Prokaryotic expression and characterization of avian influenza A virus M2 gene as a candidate for universal recombinant vaccine against influenza A subtypes; specially H5N1 and H9N2. *Molecular Biology Reports*, 37(6), 2909–2914.

EFSA (2017) Avian influenza overview October 2016–August 2017. *EFSA J.*, 15, e05018.

Evseev, D., & Magor, K. E. (2019) Innate immune responses to avian influenza viruses in ducks and chickens. *Veterinary Sciences*, 6(1), 5.

Fan, W., Zeng, X., Chen, Y., Yu, Q., Zhang, Z., Tian, G., Liu, C., Bao, H., Qi, X., & Wu, L. (2025) A recombinant Marek's disease vaccine candidate provides complete protection against infectious bursal disease virus and H9 subtype avian influenza virus in chickens. *Journal of Virology*, e01149-25.

Gashaw, M. (2020) A review on avian influenza and its economic and public health impact. *Int J Vet Sci Technol*, 4(1), 15–27.

Gharaibeh, S., & Mahmoud, K. (2013) Decay of maternal antibodies in broiler chickens. *Poultry Science*, 92(9), 2333–2336.

Goossens, K. E., Karpala, A. J., Rohringer, A., Ward, A., & Bean, A. G. D. (2015) Characterisation of chicken viperin. *Molecular Immunology*, 63(2), 373–380.

Gu, Y., Hsu, A. C.-Y., Pang, Z., Pan, H., Zuo, X., Wang, G., Zheng, J., & Wang, F. (2019) Role of the innate cytokine storm induced by the influenza A virus. *Viral Immunology*, 32(6), 244–251.

Guan, J., Fu, Q., & Sharif, S. (2015) Replication of an H9N2 avian influenza virus and cytokine gene expression in chickens exposed by aerosol or intranasal routes. *Avian Diseases*, 59(2), 263–268.

Haghighi, H. R., Read, L. R., Haeryfar, S. M. M., Behboudi, S., & Sharif, S. (2009) Identification of a dual-specific T cell epitope of the hemagglutinin antigen of an h5 avian influenza virus in chickens. *PLoS One*, 4(11), e7772.

Hajam, I. A., Kim, J., & Lee, J. H. (2018) Salmonella Gallinarum delivering M2eCD40L in protein and DNA formats acts as a bivalent vaccine against fowl typhoid and H9N2 infection in chickens. *Veterinary Research*, 49(1), 99.

Halbherr, S. J., Ludersdorfer, T. H., Ricklin, M., Locher, S., Berger Rentsch, M., Summerfield, A., & Zimmer, G (2015) Biological and protective properties of immune sera directed to the influenza virus neuraminidase. *Journal of Virology*, 89(3), 1550–1563.

Hassan, M. S. H., & Sharif, S (2025) Immune responses to avian influenza viruses in chickens. *Virology*, 110405.

Herrera-Ong, L. R (2023) Strategic construction of mRNA vaccine derived from conserved and experimentally validated epitopes of avian influenza type A virus: a reverse vaccinology approach. *Clinical and Experimental Vaccine Research*, 12(2), 156. Herrera-Rodriguez, J., Signorazzi, A., Holtrop, M., de Vries-Idema, J., & Huckriede, A (2019) Inactivated or damaged? Comparing the effect of inactivation methods on influenza virions to optimize vaccine production. *Vaccine*, 37(12), 1630–1637.

Huang, Z., Fang, D., Lv, P., Bian, X., Ruan, X., Yan, Y., & Zhou, J (2012) Differential cellular immune responses between chickens and ducks to H9N2 avian influenza virus infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 150(3–4), 169–180.

Hyoung, K. J., Hajam, I. A., & Lee, J. H (2017) A consensus-hemagglutinin-based vaccine delivered by an attenuated Salmonella mutant protects chickens against heterologous H7N1 influenza virus. *Oncotarget*, 8(24), 38780.

Jang, H., Elaiash, M., Kc, M., Abundo, M. C., Ghorbani, A., Ngunjiri, J. M., & Lee, C.-W (2018) Efficacy and synergy of live-attenuated and inactivated influenza vaccines in young chickens. *PLoS One*, 13(4), e0195285.

Jia, D., Rahbar, R., Chan, R. W. Y., Lee, S. M. Y., Chan, M. C. W., Wang, B. X., Baker, D. P., Sun, B., Peiris, J. S. M., & Nicholls, J. M (2010) Influenza virus non-structural protein 1 (NS1) disrupts interferon signaling. *PLoS One*, 5(11), e13927.

Kalaiyarasu, S., Bhatia, S., Mishra, N., Senthil Kumar, D., Kumar, M., Sood, R., Rajukumar, K., Ponnusamy, B., Desai, D., & Singh, V. P (2021) Elicitation of Highly Pathogenic Avian

Influenza H5N1 M2e and HA2-Specific Humoral and Cell-Mediated Immune Response in Chicken Following Immunization With Recombinant M2e–HA2 Fusion Protein. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 571999.

Kang, H.-J., Chu, K.-B., Lee, D.-H., Lee, S.-H., Park, B. R., Kim, M.-C., Kang, S.-M., & Quan, F.-S (2019) Influenza M2 virus-like particle vaccination enhances protection in combination with avian influenza HA VLPs. *PLoS One*, 14(6), e0216871.

Karpala, A. J., Lowenthal, J. W., & Bean, A. G (2008) Activation of the TLR3 pathway regulates IFN $\beta$  production in chickens. *Developmental & Comparative Immunology*, 32(4), 435–444.

Karpala, A. J., Stewart, C., McKay, J., Lowenthal, J. W., & Bean, A. G. D (2011) Characterization of chicken Mda5 activity: regulation of IFN- $\beta$  in the absence of RIG-I functionality.

Lee, C.-W., & Saif, Y. M (2009) Avian influenza virus. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 32(4), 301–310.

Lee, J.-S., Chowdhury, M. Y. E., Moon, H.-J., Choi, Y.-K., Talactac, M. R., Kim, J.-H., Park, M.-E., Son, H.-Y., Shin, K.-S., & Kim, C.-J (2013) The highly conserved HA2 protein of the influenza A virus induces a cross protective immune response. *Journal of Virological Methods*, 194(1–2), 280–288.

Lei, H., Lu, X., Li, S., & Ren, Y (2021) High immune efficacy against different avian influenza H5N1 viruses due to oral administration of a Saccharomyces cerevisiae-based vaccine in chickens. *Scientific Reports*, 11(1), 8977.

Li, Q.-Y., Xu, M.-M., Dong, H., Zhao, J.-H., Xing, J.-H., Wang, G., Yao, J.-Y., Huang, H.-B., Shi, C.-W., & Jiang, Y.-L (2020) Lactobacillus plantarum surface-displayed influenza antigens (NP-M2) with FliC flagellin stimulate generally protective immune responses against H9N2 influenza subtypes in chickens. *Veterinary Microbiology*, 249, 108834.

Li, Y., Reddy, K., Reid, S. M., Cox, W. J., Brown, I. H., Britton, P., Nair, V., & Iqbal, M

# Artículos

(2011) Recombinant herpesvirus of turkeys as a vector-based vaccine against highly pathogenic H7N1 avian influenza and Marek's disease. *Vaccine*, 29(46), 8257–8266.

Li, Z., Peng, C., Chen, L., Wang, P., & Wang, F (2024) Construction and immunogenicity evaluation of recombinant *Bacillus subtilis* expressing HA1 protein of H9N2 avian influenza virus. *Current Microbiology*, 81(1), 25.

Liniger, M., Moulin, H. R., Sakoda, Y., Ruggli, N., & Summerfield, A (2012) Highly pathogenic avian influenza virus H5N1 controls type I IFN induction in chicken macrophage HD-11 cells: a polygenic trait that involves NS1 and the polymerase complex. *Virology Journal*, 9(1), 7.

Liu, W., Zou, P., Ding, J., Lu, Y., & Chen, Y.-H (2005) Sequence comparison between the extracellular domain of M2 protein human and avian influenza A virus provides new information for bivalent influenza vaccine design. *Microbes and Infection*, 7(2), 171–177.

Mallick, A. I., Kulkarni, R. R., St. Paul, M., Parvizi, P., Nagy, E., Behboudi, S., & Sharif, S (2012) Vaccination with CpG-adjuvanted avian influenza virosomes promotes antiviral immune responses and reduces virus shedding in chickens. *Viral Immunology*, 25(3), 226–231.

Martínez-Sobrido, L., & García-Sastre, A (2007) Recombinant influenza virus vectors. *Future Virology*, 2(4), 401–416.

Masuda, Y., Matsuda, A., Usui, T., Sugai, T., Asano, A., & Yamano, Y (2012) Biological effects of chicken type III interferon on expression of interferon-stimulated genes in chickens: comparison with type I and type II interferons. *Journal of Veterinary Medical Science*, 74(11), 1381–1386.

Mibayashi, M., Martínez-Sobrido, L., Loo, Y.-M., Cárdenas, W. B., Gale Jr, M., & García-Sastre, A (2007) Inhibition of retinoic acid-inducible gene I-mediated induction of beta interferon by the NS1 protein of influenza A virus. *Journal of Virology*, 81(2), 514–524.

Mou, C., Zhu, L., Yang, J., Xu, W., Cheng, X., & Yang, Q (2016) Immune responses induced by recombinant *Bacillus subtilis* expressing

the hemagglutinin protein of H5N1 in chickens. *Scientific Reports*, 6(1), 38403.

Moulin, H. R., Liniger, M., Python, S., Guzylack-Piriou, L., Ocaña-Macchi, M., Ruggli, N., & Summerfield, A (2011) High interferon type I responses in the lung, plasma and spleen during highly pathogenic H5N1 infection of chicken. *Veterinary Research*, 42(1), 6.

OMSA (1998) *Código Sanitario para los Animales Terrestres - Capítulo 10.4 - Infección por los virus de influenza aviar de alta patogenicidad*. [https://www.woah.org/es/que-hacemos/normas/codigos-y-manuales/acceso-en-linea-al-codigo-terrestre/?id=169&L=1&htmfile=chapitre\\_aviar\\_influenza\\_virus.htm](https://www.woah.org/es/que-hacemos/normas/codigos-y-manuales/acceso-en-linea-al-codigo-terrestre/?id=169&L=1&htmfile=chapitre_aviar_influenza_virus.htm)

OMSA (2021a) *Manual Terrestre de la OMSA - Capítulo 3.3.4. - Influenza aviar*. [https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health\\_standards/tahm/3.03.04\\_AI.pdf](https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.03.04_AI.pdf)

OMSA(2021b) Avian influenza (including infection with high pathogenicity avian influenza viruses). In *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. OIE Paris, France.

Pose, A. G., Rodriguez, E. S., Mendez, A. C., Gomez, J. N., Redondo, A. V., Rodriguez, E. R., Ramos, E. M. G., Gutiérrez, A. Á., Moltó, M. P. R., & Roche, D. G (2015) Dual function of the hemagglutinin H5 fused to chicken CD154 in a potential strategy of DIVA against avian influenza disease: preliminary study. *Open Veterinary Journal*, 5(2), 138–147.

Rao, S., Kong, W.-P., Wei, C.-J., Yang, Z.-Y., Nason, M., Styles, D., DeTolla, L. J., Sorrell, E. M., Song, H., & Wan, H (2008) Multivalent HA DNA vaccination protects against highly pathogenic H5N1 avian influenza infection in chickens and mice. *PLoS One*, 3(6), e2432.

Reuter, A., Soubies, S., Härtle, S., Schusser, B., Kaspers, B., Staeheli, P., & Rubbenstroth, D (2014) Antiviral activity of lambda interferon in chickens. *Journal of Virology*, 88(5), 2835–2843.

Rohaim, M. A., Gardiner, E. L., El Naggar, R. F., Abdelsabour, M. A., Madbouly, Y. M., Atasoy, M. O., Ahmed, K. A., El-Safty, M. M., & Munir, M (2024) Avian sarcoma/leukosis

virus (RCAS)-mediated over-expression of IFITM3 protects chicks from highly pathogenic avian influenza virus subtype H5N1. *Microbes and Infection*, 26(1–2), 105231.

Rohaim, M. A., Santhakumar, D., Naggar, R. F. El, Iqbal, M., Hussein, H. A., & Munir, M (2018) Chickens expressing IFIT5 ameliorate clinical outcome and pathology of highly pathogenic avian influenza and velogenic newcastle disease viruses. *Frontiers in Immunology*, 9, 2025.

Sá e Silva, M., & Swayne, D. E (2012) Serum and egg yolk antibody detection in chickens infected with low pathogenicity avian influenza virus. *Avian Diseases*, 56(3), 601–604.  
Seo, S. H., Peiris, M., & Webster, R. G (2002) Protective cross-reactive cellular immunity to lethal A/Goose/Guangdong/1/96-like H5N1 influenza virus is correlated with the proportion of pulmonary CD8+ T cells expressing gamma interferon. *Journal of Virology*, 76(10), 4886–4890.

Sha, Z., Shang, H., Miao, Y., Huang, J., Niu, X., Chen, R., Hu, L., Huang, H., Wei, K., & Zhu, R (2020) Recombinant *Lactococcus Lactis* expressing M1-HA2 fusion protein provides protective mucosal immunity against H9N2 avian influenza virus in chickens. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 153.

Singh, S. M., Alkie, T. N., Abdelaziz, K. T., Hodgins, D. C., Novy, A., Nagy, E., & Sharif, S (2016) Characterization of immune responses to an inactivated avian influenza virus vaccine adjuvanted with nanoparticles containing CpG ODN. *Viral Immunology*, 29(5), 269–275.

Singh, S., Toro, H., Tang, D.-C., Briles, W. E., Yates, L. M., Kopulos, R. T., & Collisson, E. W (2010) Non-replicating adenovirus vectors expressing avian influenza virus hemagglutinin and nucleocapsid proteins induce chicken specific effector, memory and effector memory CD8+ T lymphocytes. *Virology*, 405(1), 62–69.

Smith, J., Smith, N., Yu, L., Paton, I. R., Gutowska, M. W., Forrest, H. L., Danner, A. F., Seiler, J. P., Digard, P., & Webster, R. G (2015) A comparative analysis of host responses to avian influenza infection in ducks and chickens highlights a role for the interferon-induced transmembrane proteins in

viral resistance. *BMC Genomics*, 16(1), 574.  
Spackman, E., & Killian, M. L (2014) Avian influenza virus isolation, propagation, and titration in embryonated chicken eggs. In *Animal influenza virus* (pp. 125–140). Springer.

St. Paul, M., Brisbin, J. T., Barjesteh, N., Villaneueva, A. I., Parvizi, P., Read, L. R., Nagy, E., & Sharif, S (2014) Avian influenza virus vaccines containing Toll-like receptors 2 and 5 ligand adjuvants promote protective immune responses in chickens. *Viral Immunology*, 27(4), 160–166.

Suarez, D. L., & Pantin-Jackwood, M. J (2017) Recombinant viral-vectored vaccines for the control of avian influenza in poultry. *Veterinary Microbiology*, 206, 144–151.

Sun, Z., Zhang, W., Li, J., Yang, K., Zhang, Y., & Li, Z (2024) H9N2 avian influenza virus downregulates FcγR expression in chicken macrophage cell line HD11 by activating the JNK MAPK pathway. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(5), 2650.

Sutejo, R., Yeo, D. S., Myaing, M. Z., Hui, C., Xia, J., Ko, D., Cheung, P. C. F., Tan, B.-H., & Sugrue, R. J (2012) Activation of type I and III interferon signalling pathways occurs in lung epithelial cells infected with low pathogenic avian influenza viruses. *PLoS One*, 7(3), e33732.

Tabynov, K., Kuanyshbek, A., Yelchibayeva, L., Zharmambet, K., Zhumadilova, Z., Fomin, G., Petrovsky, N., Shekoni, O. C., Renukaradhya, G. J., & Tabynov, K (2025) Evaluation of safety, immunogenicity, and efficacy of inactivated reverse-genetics-based H5N8 highly pathogenic avian influenza virus vaccine with various adjuvants via parenteral and mucosal routes in chickens. *Frontiers in Immunology*, 16, 1539492.

Takaki, H., Sato, H., Kurata, R., Hikono, H., Hiono, T., Kida, H., Matsumoto, M., Saito, T., & Seya, T (2016) Cytokine responses to eye spray adjuvants for enhancing vaccine-induced immunity in chickens. *Microbiology and Immunology*, 60(7), 511–515.

Tao, P., Luo, M., Zhu, D., Qu, S., Yang, Z., Gao, M., Guo, D., & Pan, Z (2009) Virus-like particle vaccine comprised of the HA, NA, and

M1 proteins of an avian isolated H5N1 influenza virus induces protective immunity against homologous and heterologous strains in mice. *Viral Immunology*, 22(4), 273–281.

Tseng, Is., Pan, B.-Y., Feng, Y.-C., & Fang, C.-T (2024) Re-evaluating efficacy of vaccines against highly pathogenic avian influenza virus in poultry: a systematic review and meta-analysis. *One Health*, 100714.

Tsunekuni, R., Hikono, H., Tanikawa, T., Kurata, R., Nakaya, T., & Saito, T (2017) Recombinant avian paramyxovirus serotypes 2, 6, and 10 as vaccine vectors for highly pathogenic avian influenza in chickens with antibodies against Newcastle disease virus. *Avian Diseases*, 61(3), 296–306.

Veits, J., Wiesner, D., Fuchs, W., Hoffmann, B., Granzow, H., Starick, E., Mundt, E., Schirmer, H., Mebatsion, T., & Mettenleiter, T. C (2006) Newcastle disease virus expressing H5 hemagglutinin gene protects chickens against Newcastle disease and avian influenza. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(21), 8197–8202.

Wei, C.-J., Xu, L., Kong, W.-P., Shi, W., Canis, K., Stevens, J., Yang, Z.-Y., Dell, A., Haslam, S. M., & Wilson, I. A (2008) Comparative efficacy of neutralizing antibodies elicited by recombinant hemagglutinin proteins from avian H5N1 influenza virus. *Journal of Virology*, 82(13), 6200–6208.

Wu, P., Lu, J., Zhang, X., Mei, M., Feng, L., Peng, D., Hou, J., Kang, S.-M., Liu, X., & Tang, Y (2017) Single dose of consensus hemagglutinin-based virus-like particles vaccine protects chickens against divergent H5 subtype influenza viruses. *Frontiers in Immunology*, 8, 1649.

Xiaowen, Z., Qinghua, Y., Xiaofei, Z., & Qian, Y (2009) Co-administration of inactivated avian influenza virus with CpG or rIL-2 strongly enhances the local immune response after intranasal immunization in chicken. *Vaccine*, 27(41), 5628–5632.

Xing, Z., Cardona, C. J., Adams, S., Yang, Z., Li, J., Perez, D., & Woolcock, P. R (2009) Differential regulation of antiviral and proinflammatory cytokines and suppression of Fas-mediated apoptosis by NS1 of H9N2 avian influenza virus in chicken macrophages. *Journal of General Virology*, 90(5), 1109–1118.

Yang, W.-T., Yang, G.-L., Shi, S.-H., Liu, Y.-Y., Huang, H.-B., Jiang, Y.-L., Wang, J.-Z., Shi, C.-W., Jing, Y.-B., & Wang, C.-F (2017) Protection of chickens against H9N2 avian influenza virus challenge with recombinant *Lactobacillus plantarum* expressing conserved antigens. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101, 4593–4603.

Yang, Y., Leggat, D., Herbert, A., Roberts, P. C., & Sundick, R. S (2009) A novel method to incorporate bioactive cytokines as adjuvants on the surface of virus particles. *Journal of Interferon and Cytokine Research*, 29(1), 9–22.

Yuk, S.-S., Lee, D.-H., Park, J.-K., Tseren-Ochir, E.-O., Kwon, J.-H., Noh, J.-Y., Lee, J.-B., Park, S.-Y., Choi, I.-S., & Song, C.-S (2016) Pre-immune state induced by chicken interferon gamma inhibits the replication of H1N1 human and H9N2 avian influenza viruses in chicken embryo fibroblasts. *Virology Journal*, 13(1), 71.

Zhang, H., Xie, R., Zhang, H., Sun, R., Li, S., Xia, C., Li, Z., Zhang, L., Guo, Y., & Huang, J (2023) Recombinant hemagglutinin protein and DNA-RNA-combined nucleic acid vaccines harbored by yeast elicit protective immunity against H9N2 avian influenza infection. *Poultry Science*, 102(6), 102662.

Zhu, R., Xu, S., Sun, W., Li, Q., Wang, S., Shi, H., & Liu, X (2022) HA gene amino acid mutations contribute to antigenic variation and immune escape of H9N2 influenza virus. *Veterinary Research*, 53(1), 43.