

Revista Mexicana de Patología Clínica

Volumen **51**
Volume

Número **1**
Number

Enero-Marzo **2004**
January-March

Artículo:

Influenza aviaria ¿La primera pandemia del siglo XXI?

Derechos reservados, Copyright © 2004:
Federación Mexicana de Patología Clínica, AC

**Otras secciones de
este sitio:**

-  **Índice de este número**
-  **Más revistas**
-  **Búsqueda**

***Others sections in
this web site:***

-  ***Contents of this number***
-  ***More journals***
-  ***Search***



Medigraphic.com

Influenza aviaria

¿La primera pandemia del siglo XXI?

Palabras clave: Influenza, influenza aviaria, infecciones respiratorias, industria avícola.

Key words: Influenza, respiratory infections, avian influenza, poultry industry.

Recibido: 5/03/2004
Aceptado: 19/03/2004

Gustavo Barriga Angulo,* Carlos Arumir Escorza,* Fabiola Mercado González*

* Hospital de Infectología, Centro Médico Nacional "La Raza" IMSS.

Correspondencia:

Dr. Gustavo Barriga Angulo
Hospital de Infectología, Centro Médico Nacional "La Raza" IMSS.
Circuito Interior s/n, colonia La Raza, 02090, México D. F.

Resumen

En los últimos dos siglos varias pandemias de influenza han afectado al mundo; la más devastadora, de 1918 a 1919, causó entre 20 y 50 millones de muertes. En tres ocasiones en el pasado reciente: 1997, 1999 y 2003 y a partir de enero de este año se han presentado varios casos en humanos de influenza aviaria originados por un virus no recombinado (H5NI) de inusual patogenicidad y mortalidad (75%) en Vietnam y Tailandia, acompañado y precedido de un brote de influenza aviaria originado por la misma cepa y que está devastando la industria avícola de los países del sureste asiático. La situación actual podría dar lugar a una pandemia de influenza en humanos si no se aplican las medidas adecuadas de control. En esta revisión se analizan las características clínicas, epidemiológicas, de diagnóstico, prevención y tratamiento de las infecciones por los virus de la influenza y de las condiciones que la están favoreciendo.

Summary

In the last two centuries several influenza pandemics have exacted a high death toll from human populations, the most devastating pandemic, the so-called Spanish influenza of 1918-1919, caused deaths of 20 to 50 million people worldwide. In three occasions in the recent past: 1997, 1999, 2003, and starting in January of this year outbreaks of human cases of influenza with a non recombinant virus strain of avian influenza (H5NI) of unusual pathogenicity and mortality (75%), transmitted directly from birds to humans have been reported in Thailand and Vietnam with preceding and simultaneous avian influenza outbreaks in Cambodia, China, Hong Kong, Indonesia, Japan, Laos, South Korea, Thailand and Vietnam with devastating effects on his poultry industry. This situation could be the origin of a new influenza pandemic in humans. Here we review current knowledge about the ecology, interspecies transmission, laboratory diagnosis, clinical symptoms, prevention, treatment, and pathogenicity of avian influenza viruses and the human health threats posed by these pathogens.

Introducción

Las pandemias de influenza, definidas como brotes globales de la enfermedad debidas a virus con nuevos subtipos antigénicos, han ocasionado elevadas tasas de mortalidad en humanos. La más devastadora denominada como:

influenza española de 1918 a 1919 causó entre 20 y 50 millones de muertes y afectó a más de 200 millones de personas;¹ otras pandemias menos catastróficas se presentaron en 1957: *influenza asiática*;² 1968: *influenza de Hong Kong*³ y 1977: *influenza rusa*.⁴ Las últimas pandemias fueron causadas por virus híbridos o recombinan-

tes, que albergaban una combinación de genes virales humanos y aviarios.⁵ Sin embargo en 1997, por primera vez se produjo un brote de influenza humana en Hong Kong originado por un virus de influenza aviario (H5NI) que fue transmitido directamente de aves a humanos, en mercados de aves vivas, 18 personas fueron infectadas y seis murieron;⁶ en 1999 se presentaron nuevamente tres casos en humanos también en Hong Kong;⁷ y en el 2003 otros tres casos en una familia de Hong Kong que había viajado al interior de China previamente.⁸ A partir del 5 de enero de este año y hasta el 17 de marzo se habían registrado 44 casos de influenza aviaria en humanos causados por la misma cepa H5NI, esta vez en Tailandia y Vietnam con 75% de mortalidad; precedidos y acompañados de un brote de influenza aviaria altamente patogénica en varios países del sureste asiático: Camboya, Sud Corea, Tailandia, Japón, China e Indonesia.^{9,10} La rápida diseminación de influenza aviaria altamente patogénica, en brotes sucediendo al mismo tiempo en varios países, históricamente no tiene precedente y es de gran preocupación para la industria avícola mundial, sobre todo si se considera que el sureste asiático posee una población avícola de aproximadamente 6 mil millones de aves, la mitad de la cual pertenece a 200 millones de granjeros que las crían en condiciones inadecuadas de salubridad e higiene, expuestas al contacto de virus acarreados por aves silvestres y en convivencia cercana con otros animales domésticos, como el cerdo, y el hombre. Este tipo de influenza es particularmente alarmante en términos de salud pública humana, ya que la cepa causal ha brincado la barrera de las especies y mostrado propensión a adquirir genes de virus que infectan a otras especies animales y causado enfermedad mortal en humanos aun sin necesidad de recombinarse con virus de mamíferos o humanos intermediarios.

La presente situación podría dar lugar a una pandemia de influenza en humanos si no se apli-

can las medidas adecuadas de control, ya que las vacunas disponibles en este momento no protegen contra la cepa H5NI, el prototipo de la cepa de Hong Kong de 1997 no es útil, el virus actual ha mutado significativamente e incluso ha mostrado resistencia a la amantadina y a la rimantadina dos medicamentos antivirales efectivos anteriormente en el tratamiento y quimioprofilaxis de la influenza A.¹¹

Etiología

Los virus de la influenza pertenecen a la familia de los *Orthomyxoviridae*, con un tamaño de 80 a 120 nanómetros, presentan un genoma fragmentado de ácido desoxirribonucleico de cadena sencilla envuelto por una nucleoproteína. A la microscopia electrónica los virus son pleomórficos: viriones esféricos, rugosos y filamentosos rodeados por una doble capa lipídica de características similares a las de las células huésped, (*figura 1*) recubiertos de espículas de aproximadamente 16 nanómetros de largo, correspondientes a dos de las tres proteínas transmembranales superficiales: la hemaglutinina (HA) de forma bacilar y que protruye de la envoltura como un trímero, (*figura 2*) y la neuraminidasa (N:A) que tiene forma de hongo y emerge como un tetrámero, (*figura 3*) ambas ancladas a la envoltura lipídica, y la proteína de matriz (M) dividida en dos tipos (M1 y M2).

Tanto la hemaglutinina como la neuraminidasa son antigénicas y despiertan la formación de anticuerpos neutralizantes al virus, la hemaglutinina permite al virus unirse a los sialoligosacáridos de las superficies celulares y es la responsable de la actividad hemaglutinante, la neuroaminidasa es una sialicidasa que impide la agregación de los viriones removiendo el ácido siálico celular superficial (M1 y M2).

El análisis filogenético de una gran variedad de virus de la influenza en diversos huéspedes de diferentes regiones geográficas muestra que han

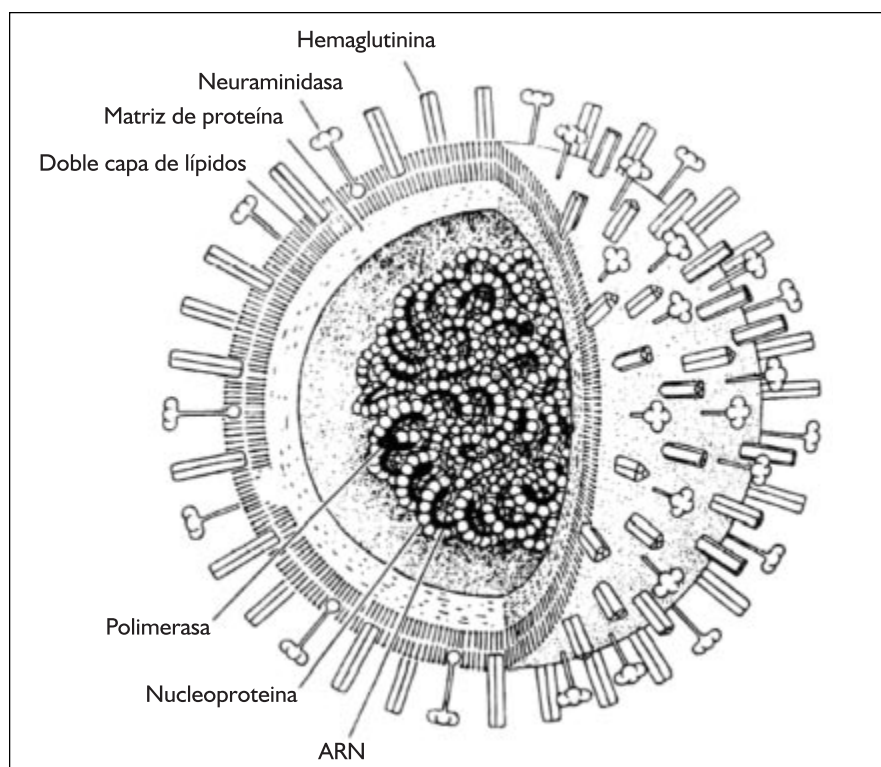


Figura 1.

evolucionado en siete linajes específicos de hospederos: dos en caballos (Equino 1, antiguo; Equino 2, reciente), uno en gaviotas, uno en pájaros norteamericanos, uno en aves euroasiáticas, uno en cerdos y uno en humanos

La particularidad de la fragmentación genómica de estos virus permite el intercambio de información genética durante la infección mixta de células con diferentes virus que pueden provenir de especies animales diferentes o del hombre, se pueden observar dos tipos de variaciones antigénicas: *gradual o menor* por cambios en los epítopes de las glicoproteínas HA y NA, que surgen por selección de mutantes con frecuencia alta, y *drástica* por desplazamiento, cambio antigénico que sucede rara vez y da origen a la aparición de nuevas cepas, con antígenos de superficie diferentes a los ya existentes.

Los cambios pueden presentarse en las glicoproteínas HA y NA y en otras proteínas afec-

tando la virulencia y multiplicación viral. Desde 1933 los virus de la influenza A han presentado cuatro desplazamientos antigénicos importantes originados por la recombinación de cepas humanas y de animales, cada nueva variante ha dado lugar a nuevos subtipos; todos los subtipos circulan en las aves domésticas y silvestres durante años, sólo los subtipos H1, H2 y H3 han circulado en humanos, y sólo en un número limitado de subtipos aislados en otras especies de mamíferos como H1, H3 y H9 en cerdos; H3 y H7 en caballos.

Cuando un virus originado en una especie animal entra en otra especie diferente de hospedero, el virus sufre una rápida evolución; teóricamente se pueden inducir 256 diferentes combinaciones de ácido nucleico por el entrecruzamiento de los ocho diferentes segmentos genómicos del virus.^{12,13}

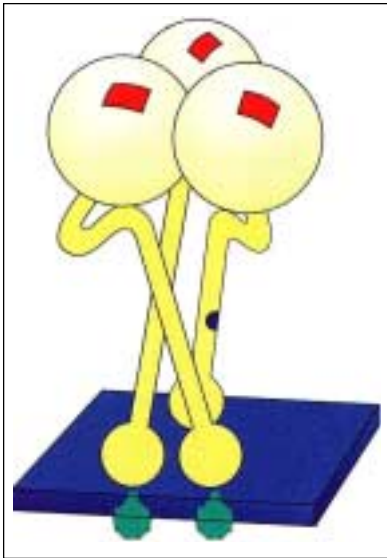


Figura 2.

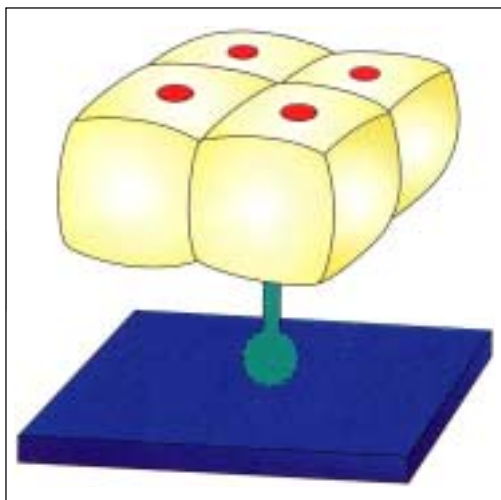


Figura 3.

Epidemiología

Los virus de la influenza se diseminan de persona a persona principalmente a través de aerosoles de las secreciones del tracto respiratorio y por contacto indirecto o directo con fomites y superficies contaminadas. Los adultos son infectantes un día antes del inicio de la sintomatología y cinco días después de la recuperación clínica, los niños pueden excretar el virus hasta seis días antes del desarrollo de enfermedad, y los pacien-

tes con compromiso inmunológico pueden eliminar el virus durante semanas o meses. Los virus de la influenza son destruidos a 56°C en tres horas, a 60°C en 30 minutos y son sensibles a diversos desinfectantes como hipoclorito de sodio al 2 a 3%, hipoclorito de calcio (2 a 3%), hidróxido de sodio (2%), carbonato de sodio (4%), ácido clorhídrico al 2%, ácido cítrico al 0.2%, formaldehído y diversos jabones y detergentes. Pero pueden sobrevivir en el estiércol de las aves hasta tres meses, en agua a 22°C por cuatro días, y a 0°C por un mes. Un gramo de estiércol de aves contaminado puede infectar hasta un millón de aves.

Los virus de la influenza han sido aislados en humanos y en una amplia variedad de animales incluyendo: cerdos, caballos, mamíferos marinos y aves (*figura 4*). Las aves acuáticas son la fuente de origen de todos los virus de la influenza para otras especies animales; en las aves acuáticas silvestres no causan enfermedad, lo que indica que han alcanzado un nivel óptimo de adaptación a su reservorio natural.

Los virus de la influenza aviaria han sido transmitidos a cerdos, caballos y mamíferos marinos; y aunque humanos y otros primates pueden ser infectados experimentalmente con ellos, su limitada replicación en estos huéspedes había llevado a la noción equivocada de que no se transmitían a humanos directamente en la naturaleza.

Los virus de la influenza aviaria son excretados en grandes cantidades en saliva, secreciones nasales y heces de aves silvestres o domésticas infectadas contaminando el suelo, el agua, comida, equipos, vehículos, jaulas, ropa, zapatos, etc. La transmisión por agua proporciona un mecanismo de perpetuación anual de estos virus en hábitats naturales. Las aves migratorias acuáticas pueden acarrear los virus a grandes distancias, sobre todo los patos salvajes. El riesgo aumenta cuando las aves domésticas o de granjas avícolas se desplazan libremente o comparten fuentes de agua con aves silvestres. Las aves vivas portadoras de la infección diseminan los virus al ser transportadas

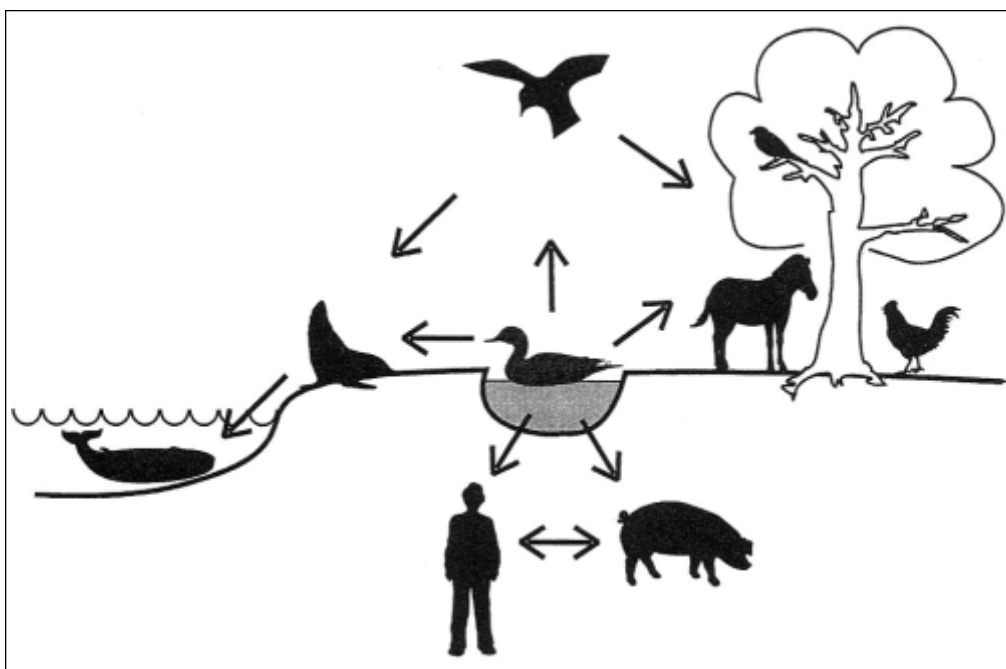


Figura 4.

20

y sacrificadas en mercados insalubres. La diseminación actual en las granjas avícolas comerciales en el sureste asiático no es una sorpresa, toda la región es un epicentro de influenza en donde aves, animales y humanos conviven cercanamente, un ambiente ideal para la generación de virus recombinantes; 80% de las reservas mundiales de aves se encuentran en ellos; 54, 18 y 20% de las exportaciones mundiales de aves vivas, carne y huevo provienen de estos países; cuando menos dos pandemias previas han tenido su sitio de origen en ellos.^{14,15}

Manifestaciones clínicas

En humanos el periodo de incubación de la influenza es de uno a cuatro días. La influenza no complicada se caracteriza por el desarrollo súbito de síntomas generales y respiratorios como: fiebre, cefalea, mialgias, malestar general, tos no productiva, faringitis y rinitis. En niños se observan frecuentemente otitis media, náusea y vómitos. En la mayoría de las personas la influenza se resuelve después de pocos días, aunque la tos, el

malestar general y las mialgias pueden persistir por más de dos semanas.

En algunas personas la influenza puede exacerbar condiciones médicas subyacentes como enfermedades cardíacas o pulmonares, el riesgo de complicaciones como neumonía viral primaria o bacteriana secundaria, hospitalización y muerte es mayor en personas menores de un año de edad y mayores de 65 años; la infección con estos virus se ha asociado a encefalopatía, mielitis transversa, síndrome de Reye, miositis, miocarditis y pericarditis. En algunos brotes epidémicos como el de 1918 a 1919, y en los casos actuales originados por la cepa A5NI, la mortalidad ha sido mayor a la habitual (75%) y se ha observado además diarrea acuosa en 50% de los casos.

En aves dependiendo de las dosis y cepas del virus infectante, de la especie, edad y sexo del ave, el periodo de incubación y la sintomatología pueden variar; en su forma más patogénica la enfermedad aparece súbitamente y el ave muere sin signos premonitorios. En otros casos después de un periodo de incubación de tres a siete días, disminuye o cesa la producción de huevos, se pre-

senta inapetencia, fiebre, debilidad, cianosis, edema de cara y cuello, lesiones hemorrágicas equimóticas, o petequiales, diarrea, erizamiento de plumas, alteraciones del sistema nervioso con ataxia y torticollis y finalmente muerte (50 a 100% de mortalidad).^{16,17}

Diagnóstico de laboratorio

El tratamiento apropiado de los pacientes con infección respiratoria aguda depende de un diagnóstico etiológico preciso y oportuno, el diagnóstico temprano de influenza puede reducir el uso inapropiado de antibióticos y la opción de una terapia antiviral.

Las pruebas disponibles de laboratorio para el diagnóstico de influenza son:

- Aislamiento viral
- Detección de antígenos virales
- Detección de material genético del virus
- Determinación de anticuerpos

El aislamiento viral es de primordial importancia ya que sólo de esta manera es posible obtener información específica acerca de las cepas circulantes y tomar decisiones terapéuticas y preventivas, monitorear resistencia y *documentar* la *emergencia* de *nuevos subtipos* de influenza que puedan representar un reto epidémico.

El aislamiento viral se puede realizar en muestras de lavado nasal, exudado faríngeo, secreciones respiratorias y muestras de tejidos, debiendo de realizarse dentro de los primeros tres días después del inicio de la sintomatología, el cultivo se puede realizar en diversos cultivos celulares como células de riñón de mono, canino y Hepa 2, o bien en embriones de pollo, pudiéndose demostrar en ellos por inmunofluorescencia directa, efecto citopático, hemaglutinación y hemadsorción.

La determinación de antígenos virales se puede llevar a cabo en secreciones respiratorias y tejidos por técnicas de inmunofluorescencia o de inmunohistoquímica. Las de amplificación de ácidos nucleicos por hibridación o reacción en cadena de la polimerasa.

El diagnóstico serológico puede ser de utilidad siempre y cuando se realicen pruebas con muestras de fase aguda y fase de convalecencia que demuestren una elevación mínima de cuatro títulos entre una y otra, o bien se disponga de pruebas de anticuerpos de tipo IgM. Se dispone de numerosas variedades de pruebas como:

- ELISA y neutralización, fijación de complemento, inhibición de hemaglutinación, etc.^{18,19}

Tratamiento y prevención

Existen comercialmente cuatro medicamentos antivirales efectivos contra los virus de la influenza los inhibidores de M2 o derivados de la amantadina: rimantadina y amantadina; y los inhibidores de la neuraminidasa: oseltamivir y zanamavir. Cuando se utilizan dentro de las primeras 48 horas de evolución, reducen la duración de la sintomatología, complicaciones como neumonía y bronquitis y disminuyen la eliminación del virus. Asimismo son efectivos en 70 a 90% como quimioprofilácticos en prevenir la sintomatología y la eliminación del virus. No se recomienda utilizarlos durante el embarazo ni en menores de un año de edad, la amantadina ha demostrado ser teratogénica y embriotóxica en animales.

La quimioprofilaxis se recomienda para todos los contactos en brotes epidémicos, sobre todo en personas mayores de 65 años de edad, y/o con compromiso inmunológico o enfermedades cardíacas o pulmonares subyacentes, la quimioprofilaxis puede ser de gran utilidad en el control de brotes de influenza en guarderías, hospitales, cruceros, escuelas, cuarteles, internados, etc.

La secuenciación genética de virus aislados de casos humanos originados por la cepa A(H5NI) del brote actual han demostrado resistencia a amantadina y rimantadina por lo que no se recomienda utilizarlos en los casos originados por esta cepa particular.

Se recomiendan además los cuidados generales y sintomáticos como hidratación adecuada y alimentación balanceada, antihistamínicos y analgésicos.

No es un requisito necesario contar con un diagnóstico confirmado por el laboratorio para la administración de antivirales, bastará confirmar la presencia de un brote de influenza en la comunidad.²⁰

Prevención

Las medidas preventivas son muy amplias y los escenarios muy diversos. La vacunación anual es la medida más importante para reducir el impacto de la influenza y sus complicaciones, pero para que sea eficaz debe de incluir las últimas cepas circulantes, la aplicación es intramuscular; sin embargo, las vacunas disponibles en este momento no ofrecen protección contra la infección con el virus AH5NI.

Dadas las características del brote actual otras medidas son:

22

1. Reducir la oportunidad de exposición humana al mayor reservorio del virus: *aves infectadas*.
 - a) Contención: sacrificar a *todas* las aves enfermas y/o expuestas.
 - b) Adecuado desecho y eliminación de los cadáveres de animales infectados.
 - c) Reducir el contacto de animales y aves domésticas con aves silvestres, impidiendo su libre circulación y compartir fuentes de agua.
 - d) Cuarentena y desinfección rigurosa de las granjas o industrias avícolas infectadas
 - e) Los viajeros a países asiáticos con brotes documentados de influenza aviaria deberán de evitar el contacto con animales vivos en mercados y granjas, o con superficies contaminadas con secreciones y heces de aves.
 - f) Embargo de todas las aves vivas o muertas, y todos sus productos derivados incluyendo huevo de todos los países con brotes documentados de influenza aviaria por 30 días mínimo.²¹
2. Evitar la infección en personal de servicios de salud.

Todos los pacientes que sean atendidos con síntomas respiratorios y fiebre deberán manejar-se de acuerdo a precauciones estándar:

- a) Higiene de manos antes y después de cualquier contacto con pacientes.
- b) Utilización de guantes y batas.
- c) Protección ocular cuando se trabaje a menos de un metro del paciente.

3. Los pacientes con diagnóstico confirmado de influenza aviaria por H5NI:

- a) Colocarlos en cuartos de aislamiento respiratorio con monitoreo de presión negativa, y seis a 12 cambios de aire por hora.
- b) Utilizar mascarilla protectora N-95 cuando se entre al cuarto de aislamiento.
- c) En caso de alta antes de 14 días, continúa su aislamiento en casa.
- d) Las muestras clínicas de los casos deberán manejarse con un nivel de bioseguridad nivel 3, esto incluye: acceso controlado al laboratorio con puerta de entrada doble, cuarto de cambio, regadera, uso de respiradores, descontaminación de desechos.²²

Conclusiones

Un brote de influenza aviaria altamente patogénica está afectando a las granjas avícolas de países del sureste asiático: Camboya, China, Hong Kong, Indonesia, Japón, Laos, Sudcorea, Tailandia y Vietnam, desde diciembre del año pasado, la rápida diseminación de la infección en brotes sucediendo al mismo tiempo en varios países históricamente no tiene precedente; la cepa causal, un subtipo del virus de la influenza de tipo A: H5NI, ha brincado la barrera de las especies y causado enfermedad severa mortal en humanos (75%) en tres ocasiones en el pasado reciente: 1997, 1999, 2003, y actualmente en números crecientes en Vietnam y Tailandia; adicionalmente, las cepas de estos últi-

mos casos han mostrado resistencia antiviral a la amantadina y rimantidina dos medicamentos efectivos anteriormente en el tratamiento y la quimioprofilaxis de la influenza. Los casos en humanos han resultado al parecer del contacto con aves infectadas y sus excreciones y secreciones.

La mayor preocupación actual es que este brote pudiera llegar a convertirse en la primera pandemia de influenza del siglo XXI si no es controlada.

El sureste asiático se considera como el epicentro de la influenza basándose en su papel como sitio de origen en dos pandemias previas, la convivencia cercana de gente, cerdos y aves en esta región ofrece un ambiente ideal para la generación de virus recombinantes

Los brotes de influenza aviaria pueden ser considerados también como parte de un proceso de cambio global; las dinámicas comerciales mundiales actuales, los cambios climáticos que alteran la distribución y abundancia de insectos vectores, la migración de aves, la urbanización; el aumento en los ingresos económicos y los cambios de dieta están originando un aumento en la demanda de producción de animales, y se prevee un crecimiento exponencial de las industrias avícolas asiáticas en las próximas décadas.

Los brotes de influenza aviaria, síndrome respiratorio agudo severo, la enfermedad boca-pie, la fiebre del valle del Rift, etc. reflejan inestabilidad en las industrias agrícola y avícola. Por lo que es urgente una reconsideración en los procesos globales de producción y distribución de alimentos.

Por el momento el nivel de actividad de influenza humana permanece bajo en la mayoría de los países del mundo (marzo de 2004), a excepción de Hong Kong, China y Japón que han tenido un nivel elevado de influenza, que sin embargo es del tipo AH3/N2.⁹

Agradecimiento

A María Belem Morales Alarcón, por su colaboración en la redacción de este manuscrito.

Referencias

1. Taubenberger JK. Seeking the 1918 Spanish Influenza Virus. *Am Soc M News* 1999; 65(7): 473-478.
2. Kawaoka Y, Krauss S, Webster R. Avian to human transmission of the PBI gene of influenza A viruses in The 1957 and 1968 pandemics. *J Virol* 1989; 63: 4603-4608.
3. Cockburn WC, Delos PJ, Ferreira W. Origin and progress of the 1968-1969 Hong Kong influenza epidemic. *Bull WHO* 1969; 41: 345-353.
4. Kung HC, Ken KF, Yuan CW. Influenza in 1977 recurrence of influenza virus A Subtype H1N1. *Bull WHO* 1978; 56: 913-918.
5. Webster RG. Influenza virus: transmission between species and relevance to emergence of the next human pandemic. *Arch Virol* 1997; 142(Suppl. 13): 105-113.
6. CPC. Isolation of avian influenza A (H5N1) Viruses from humans - Hong Kong 1997-1998. *Morb Mortal Wkly Rep* 1998; 46: 1245-1247.
7. Guan YK, Shortridge KF, Krauss S, Li PH, Kawaoka Y, Webster RG. Molecular characterization of H9N2 influenza viruses: were they donors of the internal genes of H5N1 viruses in Hong Kong. *Proc Natl Acad Sci* 1999; 96: 9365-9367.
8. World Health Organization Avian influenza frequently asked questions 20004, January <http://www.who.int/wer>
9. OMS-WER February 13 2004 7, 2004; 79: 65-76 <http://www.who.int/wer/>
10. World Health Organization. Avian influenza A (H5N1) update 33: Situation (human) in Thailand 2004 March <http://www.who.int/wer>
11. MMWR. *Prevention and Control of Influenza: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP)* 2003 52 RRO8 1-36.
12. Levine AJ. *VIRUSES The influenza A Virus 1992-155-175*. Scientific American Library New York 10010 USA.
13. Horimoto T, Kawaoka Y. Pandemic Threat Posed by Avian Influenza A Viruses. *Clin Microb Rev* 2001; 14: 1, 129-149.
14. Cox NJ, Subbarao K. Global epidemiology on influenza: past and present. *Annu Rev Med* 2000; 51: 407-421.
15. Dowell SF. Seasonal Variation in Host Susceptibility and cycles of Certain Infectious Diseases. *Emerg Infect Dis* 2001; 7(3): 369-371.
16. Manto AS, Koopman J, Longini IM. Tecomseh study of illness XIII. Influenza infection and disease. *Am J Epidemiol* 1985; 121: 811-822.
17. WHO. *Preliminary clinical and epidemiological description on influenza A (H5N1) in Viet Nam*. 2004; 7(79): 65-76.
18. Layne SP, Beugeldij KTJ, Patel CK, Taubenberger JK, Cox NJ, Gust ID. A global lab against influenza. *Science* 2001; 293: 1729.
19. Peiris M, Yam WC, Chan KH, Ghose P, Shortridge KF. Influenza a. H9N2: aspects of laboratory diagnosis. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 3426-3427.
20. Kaiser L, Wat C, Mills T, Mahoney P, Ward P, Hayden F. Impact of oseltamivir treatment on influenza related lower respiratory tract Complications and hospitalizations. *Arch Intern Med* 2003; 163: 1667-1672.
21. CDCs Travelers Health page: <http://www.cdc.gov/travel>.
22. Bradley SI. Prevention on influenza in long-term care facilities *Infect Control Hosp Epidemiol* 199; 20: 629.