



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**DETERMINACIÓN DE LA SEROPREVALENCIA DE INFLUENZA
PORCINA SUBTIPOS H1N1 Y H3N2 EN LOS ESTADOS DE JALISCO,
GUANAJUATO Y MICHOACÁN**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
PRESENTA

PAULINA ÁVALOS GUZMÁN

ASESORES

Dr. José Ivan Sánchez Betancourt

Dra. Ma. Elena Trujillo Ortega

México D.F.

Diciembre del 2008



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIA

A dios

Con mucho cariño principalmente a mis padres que me dieron la vida y han estado conmigo en todo momento. Gracias por todo papá y mamá por darme una carrera para mi futuro y por creer en mí, aunque hemos pasado momentos difíciles siempre han estado apoyándome, por esto les agradezco que estén conmigo.

A mi hermana

A mis tíos

A mis asesores de tesis: Dr. Iván Sánchez Betancourt y la Dra. María Elena Trujillo Ortega.

A mis amigas de toda la vida: Adriana Franco, Jacqueline Zúñiga, Gabriela Falcón y Pamela Espinosa.

A mis amigos de la facultad: Mayra Sierra, Oscar Carrillo, Cesar Esparza, Erika Hernández, Oscar Balderas.

A mis amigos del CICH

A mis maestros de la carrera: Arturo Alonso Pesado, María Eugenia Candanosa, José Paéz Esquiliano, Javier Flores Covarrubias, Germán Borbolla Sosa.

A los miembros del DPAC.

A mis gatos y mis perros

CONTENIDO

	Página
PORTADA	I
Dedicatoria	II
Contenido	III-IV
Lista de Abreviaturas	V
Resumen	1
INTRODUCCIÓN	2
Etiología	3
Clasificación y Nomenclatura	4
Cuadro 1. Asignaciones de codificación de los segmentos de ARN del genoma del virus de la influenza tipo A	5
Estructura y Función de la Hemaglutinina	6
Estructura y función de la Neuraminidasa	7
Desviación y cambio antigénico	7
Cuadro 2. Subtipos de influenza tipo A aislados del humano, cerdos, caballos y aves	11
Epidemiología	15
Patogenia	17
Signos Clínicos	18
Lesiones	20
Diagnóstico	21
Prevención y control	22
Reportes en México	23
HIPÓTESIS	24
OBJETIVOS	24
MATERIAL Y MÉTODOS	25
Muestras	25
Titulación viral por hemoaglutinación	25
Tratamiento de los sueros	26
Inhibición de la hemoaglutinación	26
Variables de estudio	27
Análisis estadístico	27
RESULTADOS	28
DISCUSIÓN	30

REFERENCIAS	32
ANEXO	37
Cuadro 1. Seroprevalencia de los subtipos virales en los estados de Jalisco, Michoacán y Guanajuato	37
Cuadro 2. Seroprevalencia de los subtipos virales en los municipios del estado de Jalisco	38
Cuadro 3. Seroprevalencia de los subtipos virales en los municipios del estado de Guanajuato	39
Cuadro 4. Seroprevalencia de los subtipos virales en los municipios del estado de Michoacán	40
Figura 1. Seroprevalencia del virus de Influenza Porcina en la región del Bajío	41
Figura 2. Seroprevalencia por estado del virus de Influenza Porcina en la región del Bajío	42
Figura 3. Seroprevalencia del virus de Influenza Porcina en el Estado de Jalisco	43
Figura 4. Seroprevalencia del virus de Influenza Porcina en el Estado de Guanajuato	44
Figura 5. Seroprevalencia del virus de Influenza Porcina en el Estado de Michoacán	45
Figura 6. Mapa de distribución de anticuerpos generada por cada subtipo viral en la zona del Bajío de la República Mexicana	46

RESUMEN

PAULINA AVALOS GUZMÁN. Determinación de la seroprevalencia de influenza porcina subtipos H1N1 y H3N2 en los estados de Jalisco, Guanajuato y Michoacán, bajo la supervisión de: Dr. José Ivan Sánchez Betancourt y la Dra. María Elena Trujillo Ortega.

La influenza porcina es una enfermedad viral que afecta a una gran variedad de especies incluyendo al humano. La importancia de esta enfermedad radica en: la variedad de serotipos descritos debido a la capacidad de éste para alterarse genéticamente por su condición de poseer ARN fragmentado, el amplio intercambio interespecies considerando que el cerdo puede actuar como un factor de recombinación entre virus aviáres y humanos.

La seroprevalencia en la región del Bajío para el subtipo H1N1 fue del 81.32% de 2072 muestras positivas y para el subtipo H3N2 se obtuvo un 38.97% con 993 muestras positivas de un total de 2548 muestras analizadas. Al realizar el análisis por estado, en Jalisco se observó que la seroprevalencia era del 81.81% para el subtipo H1N1 siendo la más alta de los tres estados y del 43.93% para el subtipo H3N2. El estado de Guanajuato presentó seroprevalencia de 80.42% para el subtipo H1N1 y 27.5% para el subtipo H3N2. El estado de Michoacán presentó 81.57% de seroprevalencia para el subtipo H1N1 y 44.42% para el subtipo H3N2. Con estos resultados se puede observar que la circulación del virus de influenza porcina se encuentra ampliamente difundida en la región Bajío de la República Mexicana, identificando que el subtipo H1N1 es el más frecuente.

INTRODUCCIÓN

La influenza porcina (IP) es una enfermedad respiratoria aguda e infecciosa del cerdo, causada por el virus de influenza tipo A. La enfermedad se caracteriza por un comienzo súbito, tos, disnea, fiebre y postración, seguida por la recuperación rápida. Las lesiones por lo general se desarrollan con rapidez en el aparato respiratorio y remiten con la misma celeridad, pero en algunos casos la neumonía grave puede ser seguida por la muerte. Es probable que el curso, naturaleza y magnitud de la enfermedad varíen con la cepa del virus, la edad y estado inmune del cerdo y la presencia de infecciones recurrentes.^{1,2,3,4,5,6}

La influenza porcina ha recibido considerable atención desde que se describiera por primera vez en 1918.^{1,2,4,5,6,7,8,9,10,11} A fines del verano de ese año apareció en los cerdos del centro norte de los Estados Unidos de Norteamérica una enfermedad epizootica, que tenía muchas similitudes clínicas y anatomopatológicas con la influenza en el hombre. La aparición de la enfermedad en los cerdos coincidió con la pandemia de influenza de 1918, que se estima fue responsable de la muerte de 20 millones de personas en todo el mundo. La fecha exacta y el lugar de la aparición inicial de la IP se desconocen, pero los observadores declararon que se vieron casos en agosto de 1918 en granjas de Illinois. Aunque la infección y la enfermedad pueden haber existido en las poblaciones de cerdos antes de esa fecha, no es probable que una enfermedad con tales características distintivas haya pasado inadvertida y no se haya reportado.^{1,2,6}

En 1892 Pfeiffer anunció el aislamiento de un nuevo bacilo, llamado *Haemophilus influenzae*, del esputo de enfermos de este mal, se consideró este bacilo de la influenza como agente causal de la enfermedad y ésta fue la creencia general hasta que en 1933 los trabajos de Smith, Andrewes y Laidlaw en Inglaterra demostraron la presencia de un virus

filtrable en los lavados faríngeos de pacientes designado desde entonces como tipo A. El descubrimiento pronto fue confirmado por Francis en los EE.UU. en el año de 1934.^{6,9,11,12} En 1931, Shope dio a conocer el aislamiento de un virus en la influenza porcina, y demostró que en esta enfermedad, parecida clínicamente a la humana, intervenía un virus.^{9,12}

Etiología

La IP es producida por el virus de influenza tipo A, perteneciente a la familia Orthomyxoviridae. Los virus de la influenza porcina son viriones pleomórficos, de tamaño mediano, envueltos con glucoproteínas, normalmente llamadas espículas que se proyectan a partir de la superficie. Estas glucoproteínas, son los antígenos principales de superficie y son de dos tipos distintos: la hemaglutinina (HA) y la neuraminidasa (NA).^{1,2,3,4,5,6,13,14,15}

La hemaglutinina es la responsable de la unión del virus a las células y produce aglutinación de eritrocitos, mientras que la neuraminidasa es la responsable de la elución enzimática del virus de los eritrocitos y juega un papel en la liberación del virus de las células infectadas.^{1,15}

Los anticuerpos antihemaglutinina son de la mayor importancia en la prevención de la infección con un virus de influenza que contiene la misma hemaglutinina, mientras que los anticuerpos contra la neuraminidasa restringen la diseminación de virus a partir de las células infectadas.^{1,14,15}

Las espículas de glucoproteína de la HA y NA se encuentran incluidas en una envoltura lipídica que rodea el centro de la partícula viral. Las moléculas de proteína matriz (M) cubren la cara interna de la envoltura y rodean el core, dentro del cual se encuentra un

complejo helicoidal de moléculas que consisten en ácido ribonucleico (ARN) asociado a nucleoproteína vírica (NP) y polimerasas (enzimas que inician la replicación). Los virus de influenza se clasifican como tipo A, B o C, con base a la relación antigénica de las NP y proteínas M. El genoma vírico consta de 8 segmentos de ARN de cadena simple que codifican 10 proteínas víricas.^{1,12,13,14,16,17}

Las características antigénicas de los dos tipos de glucoproteínas de superficie sirven de base para dividir los virus en subtipos, identificándose hasta el momento 16 hemaglutininas y 9 neuraminidasas en todos los virus de influenza tipo A.^{1,14,15,16,17}

Clasificación y Nomenclatura

Para clasificar los virus de influenza en los tipos A, B y C se utilizan las diferencias antigénicas de dos de las proteínas estructurales internas la NP y M, estas proteínas no poseen reactividad cruzada entre los tres tipos, así mismo la variación antigénica en las glucoproteínas de superficie, HA y NA, se usan para definir los subtipos virales.^{10,14,15}

(Cuadro 1).

El sistema de nomenclatura para los virus de la influenza aislados, incluye la siguiente información: tipo, huésped de origen, área geográfica de procedencia, número de cepa y año de aislamiento; las descripciones antigénicas de HA y NA se dan en paréntesis para el tipo A. El huésped de origen no se indica en los virus aislados del hombre, por ejemplo: A/Hong Kong/03/68(H3N2), pero en los de animales si se indica: A/cerdo/Iowa/15/30/(H1N1).¹⁰

Cuadro 1. Asignaciones de codificación de los segmentos de ARN del genoma del virus de influenza tipo A.

Segmento genómico	Designación	Nombre de la proteína	No aprox. Moléculas por virion	Función
1	PB2	Polimerasa B2	30-60	Proteína interna de replicación viral
2	PB1	Polimerasa B1		Proteína participante en la apoptosis
3	PA	Polimerasa A		Proteína interna de replicación viral
4	HA	Hemaglutinina	500	Ligando del receptor, proteína participante en la apoptosis
5	NP	Nucleoproteína	1,000	Cápside, participa en la replicación
6	NA	Neuraminidasa	100	Rompe el ácido siálico, facilita la liberación del virus, previene la agregación viral
7	M	Matriz 1	3,000	Interactúa en el genoma, apoya en el ensamble viral
		Matriz 2	0	Forma el canal iónico, controla el pH intracelular y el desnudamiento
8	NS	No estructural 1	0	Controla la postranscripción, antagonista del interferón
		No estructural 2	0	Exporta el RNA viral del núcleo, ensamble vírico

Fuente: Jawetz E 1992 (10), Gramer MR 2005 (17)

Estructura y Función de la Hemaglutinina

La hemaglutinina (HA) une las partículas virales a las células susceptibles y es el antígeno principal contra el que se dirigen los anticuerpos neutralizantes (protectores); su variabilidad es la causa primaria de la evolución continua de cepas nuevas y de las epidemias de influenza subsiguientes. La HA debe su nombre a la propiedad de aglutinar eritrocitos en ciertas condiciones.^{10,13,16}

La secuencia primaria de HA contiene 566 aminoácidos. Una secuencia corta de señal en el extremo amino inserta al polipéptido en el retículo endoplásmico; luego esta secuencia de señal se pierde. La proteína HA se compone de dos subunidades, HA1 y HA2, que permanecen unidas por un puente disulfuro. Una sección hidrofóbica, próxima al extremo carboxilo de HA2 ancla la molécula de HA a la membrana, con una cola hidrofílica corta que se extiende hasta el citoplasma. En varios sitios se agregan residuos de oligosacáridos.^{10,13,16}

La molécula de HA se pliega en una estructura compleja, cada dímero de HA1 y HA2 enlazado forma un tallo largo rematado por un glóbulo grande, la base del tallo se ancla en la membrana. Con el análisis de variantes virales, se han identificado 5 sitios antigénicos en la molécula de HA que exhiben mutaciones extensas. Estos sitios que se ubican en regiones expuestas de la superficie de la estructura, al parecer no son esenciales para la estabilidad pero intervienen en la neutralización del virus. Otras regiones de la molécula de HA se conservan en todos los virus aislados a los que se ha determinado su secuencia, hipotéticamente por que son necesarias para que la molécula retenga su estructura y función.^{10,13}

La espícula de HA en la partícula viral es un trímero, formado de tres dímeros HA1 y HA2, entrelazados. La estructura de dímero imparte mayor estabilidad a la espícula de la que podría lograr un monómero de HA. El sitio de unión para el receptor celular (sitio de adherencia del virus) se localiza en la parte superior de cada glóbulo grande.¹⁰

El dímero de HA y HA2 necesita separarse en monómeros para que la partícula viral sea infecciosa y eso ocurre en el exterior de la célula por las proteasas que abundan en el entorno de las vías respiratorias.¹⁰

Estructura y Función de la Neuraminidasa

La antigenicidad de la neuraminidasa (NA), la otra glucoproteína de la superficie del virus de influenza, también es importante en la determinación del subtipo aislado. La secuencia de la NA se ha dilucidado. La espícula en la partícula viral es un tetrámero, compuesto de monómeros idénticos que simulan bloques unidos a la partícula por un tallo delgado. Cada bloque posee un sitio catalítico de neuraminidasa, de modo que cada espícula de NA contiene cuatro sitios activos.

La NA funciona al final de cada ciclo vital del virus, facilita la liberación de partículas virales de las superficies celulares durante el proceso de gemación y ayuda a evitar la autoagregación de viriones, por eliminación de residuos de ácido siálico de proteínas virales.^{10,15}

Desviación y Cambio Antigénico

Los virus de la influenza tienen la notable propiedad de cambiar con frecuencia las características antigénicas de la HA y la NA. Las variantes antigénicas de la influenza tienen una ventaja selectiva sobre la cepa original en presencia de anticuerpos dirigidos contra esta última. Este fenómeno explica los rasgos epidemiológicos únicos de la

influenza, ya que otros patógenos de vías respiratorias no muestran variación antigénica significativa.¹⁰

Los dos antígenos de superficie de virus de influenza, experimentan alteraciones en forma independiente. Las alteraciones antigénicas menores se denominan desviaciones antigénicas; en tanto que las alteraciones antigénicas importantes en HA o NA, llamadas cambios antigénicos, conducen a la aparición de un subtipo nuevo. La desviación antigénica se debe a la acumulación de mutaciones puntuales en el gen, que resultan en cambios de aminoácidos en la proteína. Los cambios en la secuencia de aminoácidos, pueden alterar los sitios antigénicos sobre la molécula, de modo que es posible que el virión escape al reconocimiento por el sistema inmune del huésped.^{10,18,19,20}

Una variante debe experimentar dos o más mutaciones antes de que surja una cepa nueva con importancia epidemiológica. El cambio antigénico refleja alteraciones drásticas en la secuencia de una proteína de la superficie viral cambios demasiado grandes para ser considerados como una mutación. Los segmentos genómicos virales de influenza, se redistribuyen con facilidad en las células doblemente infectadas.¹⁰

Un mecanismo probable para el cambio antigénico es el entrecruzamiento o reordenamiento genético entre virus de influenza humanos y no humanos, en especial los de origen aviario. Los virus de influenza B y C no muestran cambio antigénico, quizás debido a que existen pocos virus semejantes en los animales.^{10,13,16}

Los tres tipos de la influenza varían en forma notable en sus patrones epidemiológicos. El virus de la influenza C es el menos importante; causa enfermedad respiratoria leve, esporádica pero no epidémica. El virus de la influenza B en ocasiones causa epidemia, en

cambio el de la influenza A puede encontrarse en los continentes y causar en todo el mundo epidemias llamadas pandemias.^{10,16}

Los tres tipos de virus de influenza muestran desviación antigénica. Sin embargo, solo el tipo A experimenta cambio antigénico, posiblemente debido a que los tipos B y C están restringidos al hombre, en tanto que los virus relacionados a la influenza tipo A circulan en poblaciones de mamíferos y aves. Estas cepas de animales pueden intervenir para causar cambio antigénico, ya sea por reordenamiento de los genes que codifican a las glicoproteínas o por adaptación rápida al organismo humano. El virus de influenza causa desde infecciones mortales en pollos y pavos, hasta infecciones no manifiestas. La posibilidad de que los virus de la influenza se transmitan entre aves y mamíferos, incluyendo el hombre, puede parecer improbable, en particular si la transferencia fuera solo por vía respiratoria. Sin embargo, los virus de influenza de los patos se multiplican en el epitelio intestinal y son excretados en concentraciones grandes al agua, donde permanecen viables por días o semanas. Por tanto, es posible que la influenza entre las aves sea una infección propagada por medio del agua, que se desplaza de aves silvestres a domésticas e incluso al hombre.^{10,12,13,19} Varios estudios filogenéticos recientes, han revelado que las aves acuáticas son la fuente de todos los virus de influenza en otras especies.^{10,14,15,16,19,21,22,23,24,25,26,27}

El virus de influenza infecta una variedad de animales, incluyendo al humano, cerdos, caballos, monos, focas, ballenas, visón, hurones y aves.^{13,18,14,20,28} Se encontraron títulos altos en hurones, gatos y se aisló al virus de bazo, hígado, músculos, y pulmones, provenientes de un mono, indicando que el virus tiene la capacidad de la extensión sistémica en primates.^{13,14,15,18,28} (Cuadro 2).

Los gatos generalmente son considerados resistentes a la infección de influenza, sin embargo, se observó la enfermedad en gatos domésticos, tigres, leopardos y perros. A partir del 2003 se presentaron casos en Asia y Europa en donde se aisló al subtipo H5N1 en los que se pudo observar signos clínicos de la enfermedad, estos animales habían tenido contacto con aves infectadas naturalmente, en zonas donde es endémico este subtipo o por haberse alimentado de aves infectadas. La enfermedad se reprodujo por vía intratraqueal, vía oral (aves infectadas con el virus) y vía horizontal (contacto con gatos infectados). Las lesiones observadas en vías respiratorias fueron traqueobronquitis necrotizante severa, bronquioalveolitis, neumonía bronquiointerstitial. Además se observaron lesiones inflamatorias y necrotizantes en cerebro, miocardio, células tubulares del riñón, hígado y glándula adrenal.^{29,30,31,32}

Cuadro 2. Subtipos de influenza tipo A aislados del humano, cerdos, caballos y aves.

Subtipo	Humano	Cerdo	Caballo	Aves
HA				
H1	PR/8/34	Sw/Ia/15/30	--	Dk/Alb/35/76
H2	Sing/I/57	--	--	Dk/Ger/1215/73
H3	HK/1/68	Sw/Taiwan/70	Eq/Miami/I/63	Dk/Ukr/1/63
H4	--	--	--	Dk/Cz/56
H5	--	--	--	Tern/S.A./61
H6	--	--	--	Ty/Mass/3740/65
H7	--	--	Eq/Prague/I/56	FPV/Dutch/27
H8	--	--	--	Ty/Ont/6118/68
H9	--	--	--	Ty/Wis1/66
H10	--	--	--	Ck/Ger/N/49
H11	--	--	--	Dk/Eng/56
H12	--	--	--	Dk/Alb/60/76
H13	--	--	--	Gull/Md/704/77
H14	--	--	--	Dk/Guijev/263/82
NA				
N1	PR/8/34	Sw/Ia/15/30	--	Ck/Scot/59
N2	Sing/i/57	Sw/Taiwan/70	--	Ty/Mass/3740/65
N3	--	--	--	Tern/S.A./61
N4	--	--	--	Ty/Ont/6118/68
N5	--	--	--	Sh/Austral/i/72
N6	--	--	--	Dk/Cz/56
N7	--	--	Eq/Prague/I/56	FPV/Dutch/27
N8	--	--	Eq/Miami/I/63	Dk/Ukr/i/63
N9	--	--	--	Dk/Mem/546/74

Fuente: Webster RG 1992 (13)

Los brotes de influenza ocurren en fluctuaciones, aunque no hay una periodicidad en las epidemias. La experiencia en un año cualquiera dado, reflejará la interacción entre la desviación antigénica del virus predominante y la inmunidad que disminuye en la población. El periodo entre fluctuaciones epidémicas de la influenza A, tiende a ser de dos

a tres años; el periodo interepidémico para el tipo B es más largo de tres a seis años. Cada 10 a 40 años, cuando un subtipo nuevo de virus de la influenza A aparece, se desencadena una pandemia.¹⁰

Esto ocurrió en 1918 (H1N1), 1957 (H2N2) y 1968 (H3N3), el subtipo H1N1 resurgió en 1977 y desde entonces continua circulando al igual que el H3N2. Es interesante observar que la HA del virus pandémico de 1968 (A/Hong Kong/68[H3N2]) apenas se distinguía de virus aislados de patos y caballos (A/pato/Ucrania/63 [H3N8]) y A/equino/Miami/63(H3N8) dando crédito a la explicación del reordenamiento genético con virus de influenza de animales como base para el cambio antigénico; además, los tres últimos cambios importantes en el virus de la influenza A se originaron en China, donde gran parte de la población es rural y esta en contacto con cerdos y patos. La vigilancia de brotes de influenza, es mas extensa que con cualquier otra enfermedad, a fin de identificar la aparición temprana de cepas nuevas y preparar vacunas contra ellas antes de que ocurra una epidemia. Esta vigilancia también se extiende a poblaciones animales, en especial aves, cerdos y caballos. El aislamiento a finales de la primavera, de un virus con una hemoaglutinina alterada durante una epidemia pequeña, es la señal posible de aparición de una epidemia en el invierno siguiente, este signo de advertencia, denominado onda precursora, se ha observado precediendo a epidemias de influenza A y B.^{10,16}

Debido a que el ARN viral es segmentado, puede haber intercambios genéticos, o recombinación, entre diferentes virus de influenza A en el curso de las infecciones mixtas. La recombinación genética entre el virus de influenza del hombre y de virus de origen no

humano se considera un mecanismo probable de aparición de nuevas cepas pandémicas humanas.^{1,14,18,28,33}

En apoyo de esto, se han aislado recombinantes de virus humano y de ave (H1N1) a partir de cerdos criados y mantenidos en condiciones comerciales, también de niños asociados con cerdos infectados.¹ Además, se aislaron otros virus recombinantes a partir de cerdos. Se aislaron virus del subtipo H1N2 a partir de cerdos en Japón en el año de 1978; en Francia en 1987 y 1988; también se tienen reportes que en Gran Bretaña se aislaron subtipos H3N1 y H1N7 del virus a principios de la década del 90. Salvo el virus H1N2 de Gran Bretaña, estos recombinantes no se diseminaron por las poblaciones de cerdo. Se describió la existencia de anticuerpos contra los tipos B y C de virus de influenza en cerdos en Gran Bretaña.¹

Los tres subtipos mas comunes de influenza que circulan en los cerdos mundialmente son el “clásico” H1N1, el símil aviario H1N1 y el símil humano H3N2 y el H1N2.^{1,12} La inmunidad contra un virus de influenza H1N1 no proporciona protección contra los virus del subtipo H3N2. Las caracterizaciones antigénicas de los virus H1N1 clásicos y las variantes aviarias de H1N1 indican que estos virus permanecieron notablemente conservados después de su introducción en las poblaciones de cerdos.¹

Los subtipos que circularon antes de ese tiempo se han deducido utilizando seroepidemiología retrospectiva. Esta técnica se basa en la selección en masa de títulos de anticuerpos inhibidores de la hemoaglutinación contra numerosos subtipos de HA del virus, con sueros de muchos individuos en grupos de diferentes edades.

Se sugiere que la epidemia de 1890 fue causada probablemente por un subtipo H2N8 y la de 1900 por uno H3N8. Al parecer, la catastrófica pandemia de 1918 a 1919 se debió a la

aparición repentina del subtipo H1N1, influenza análoga a la del cerdo. Los cambios antigénicos subsecuentes se han comprobado por aislamientos del virus; por ejemplo, el subtipo H2N2 (influenza asiática) apareció en 1957 y fue reemplazado en 1968 por el subtipo H3N2 (Influenza de Hong Kong).

La cepa del subtipo H1N1 reapareció en 1977, apoyando la creencia de que las cepas humanas recirculan. Sin embargo, no se propagó a pesar de la carencia de inmunidad en la mayor parte de la población menor de 50 años.¹⁰

En la actualidad, los virus H1N1 clásico y aviario se encuentran cocirculando en la población de cerdos en Inglaterra, junto con el virus H3N2, este último representa al virus humano que surgió en Asia en 1968 y que se estableció en cerdos a lo largo de Europa durante los años 70. La evidencia de la enfermedad clínica causada en cerdos por el virus subtipo H3N2, no se describió hasta 1984 en Europa continental y unos años después en Gran Bretaña. En los últimos años, los virus H1N2 y H3N2 han sido asociados con enfermedad grave de cerdos en Canadá. En ese país los investigadores aislaron diferentes tipos virales de influenza a partir de cerdos con enfermedades similares, estos virus incluyen un H1N1 similar al H1N1 temprano; y un H1N1 más parecido a los virus H1N1 norteamericanos recientes; también un H3N2 similar al virus H3N2 humano. Lo cual es interesante de observar ya que la prevalencia de la infección con los virus del subtipo H3N2 ha sido muy baja en los Estados Unidos.¹

Desde fines de la década de los 70s, ha habido muchos reportes de brotes de IP en varios lugares de Asia, la mayoría de esos brotes se debió al virus del cerdo H1N1 o H3N2. Los brotes producidos por los virus H1N1 similares al H1N1 clásico se describieron en Taiwán en 1975, en una granja de Sarawak después de la introducción de un lote de cría de los

Estados Unidos, y en otro caso en cerdos con una enfermedad similar a la influenza en Tailandia se aisló virus porcino H1N1. ¹

En China, se describió el aislamiento de virus H3N2 a partir de cerdos en los que la H3 es similar al antígeno H3 humano temprano, y otros virus H3N2 donde el antígeno H3 humano es similar a los más recientes. Entre octubre de 1991 y enero de 1992, se demostró que 20 aislamientos del virus H1N1 aislados de cerdos asintomáticos en un matadero de Beijing eran de origen porcino, no aviario o humano. En otros 72 casos se aisló el virus H1N1 recolectados al azar en China entre los años 1976 a 1982, se demostraron características de los virus H1N1 clásicos. Los virus de la influenza aislados durante los brotes de una enfermedad similar a la influenza en cerdos en Japón, o reconocidos indirectamente por estudios serológicos, incluyeron a los virus H1N1 porcino, H1N1 humano, H3N2 humano y un H1N2 que es un recombinante con el H1 porcino de un H1N1 de origen reciente y la N2 de un H3N2 temprano. ^{1,12,13}

Epidemiología

La primera aparición de IP en una población de cerdos suele asociarse con el movimiento de animales, por ejemplo; la introducción de un grupo de animales de pié de cría. Los brotes se relacionan claramente al movimiento de animales de piaras infectadas a piaras susceptibles. Por lo común se describe que los brotes son explosivos, enfermándose todos los cerdos de la piara al mismo tiempo. Se presume que la principal vía de transmisión es la directa cerdo a cerdo por vía nasofaríngea. Las secreciones nasales están cargadas de virus durante las fases febriles agudas de la infección, proporcionando una abundante fuente de materiales infecciosos para los animales susceptibles. El cerdo se infecta rápidamente por procedimientos experimentales por instilación de suspensiones del virus en las narinas o

por exposición a aerosoles de pequeñas partículas. La transmisión por contacto se demuestra fácilmente bajo condiciones experimentales. En regiones densamente pobladas de cerdos, la diseminación por el aire puede contribuir a las epidemias explosivas en grandes áreas geográficas, en particular en una población inmunológicamente susceptible.¹ Una vez que la infección ha aparecido en una operación de cría de cerdos o en cualquier situación en la que no hay despoblación total, existe la posibilidad de circulación continua del virus. Bajo estas condiciones, los cerdos pueden infectarse a una edad muy temprana, cuando la inmunidad materna decae. Sin embargo, en la mayoría de los casos, los virus de influenza desaparecen de una piara después de un brote, dependiendo de su prevalencia en una región particular, los virus pueden introducirse en algún momento posterior (meses o años), causando infecciones del grupo de animales seronegativo de cría y engorda. La prevalencia y distribución del virus de influenza y los subtipos existentes son diferentes en distintas partes del mundo y puede haber diferencias regionales dentro de un país o continente.¹

En el curso de los años se ha especulado acerca de un estado de portador que explicaría la supervivencia interepizootica del virus de influenza porcina. La amplia incidencia de IP en los Estados Unidos y otras partes del mundo en todo momento del año apoya la probabilidad de que el virus esté circulando constantemente. En Europa, cepas de virus similar aviarios H1N1 y H3N2 de influenza cocirculan continuamente con alta frecuencia y se han hecho enzoóticas en muchas regiones. El examen serológico de cerdos ha demostrado que la prevalencia de las cepas H1N1 y H3N2 es de 92 y 57%, respectivamente, en Bélgica, 60 y 30% en Holanda, 73 y 62% en España y 55 y 45% en Alemania. En las regiones enzoóticas, es improbable que muchas granjas escapen de la

repetida exposición al virus; por consiguiente, la mayoría de las camadas en una granja nacen de cerdas inmunes y adquieren anticuerpos séricos a través del calostro. El anticuerpo del calostro puede proporcionar protección contra la enfermedad pero no contra la infección. En piaras con circulación continua de virus, pueden infectarse cerdos jóvenes en presencia de anticuerpos maternos. ¹

Patogenia

La infección con virus de influenza se limita al aparato respiratorio y la viremia solo se ha detectado en raras oportunidades. Se describió el aislamiento del virus a partir del suero de cerdos infectados experimentalmente al día siguiente y tres días post-inoculación. Sin embargo, el virus podría aislarse solo durante un día y los títulos del virus en las muestras de suero son bajos. Se ha demostrado la replicación del virus en mucosa nasal, amígdalas, traquea, ganglios linfáticos traqueobronquiales y pulmones. Pero de todas estas zonas del aparato respiratorio, los pulmones son el principal órgano blanco. ¹

Después de la inoculación intratraqueal en cerdos, los títulos de virus en los pulmones pueden ser superiores a 10^8 DIH₅₀/gramo de tejido; la cantidad de virus que alcanza las vías aéreas más profundas y la producción resultante de virus infeccioso en los pulmones parece ser lo que determina la magnitud de la enfermedad. La inoculación experimental de altas cantidades de virus ($10^7 - 10^{7.5}$ DIH₅₀) por vía nasal en cerdos de engorda (+100 kg) produjo infecciones subclínicas, en tanto que la inoculación intratraqueal de la misma dosis de virus produjo signos clínicos típicos dentro de las 24 horas post inoculación. ¹

Estudios con la prueba de inmunofluorescencia en tejido pulmonar, demuestran la rapidez de replicación viral, como el tropismo muy específico para el epitelio de los bronquiolos.

Hasta el momento no existe ninguna indicación de diferencias en el sitio de replicación en pulmones con diferentes cepas de virus de influenza.¹

Estudios realizados por Kayak *et al.*, (1965), demuestra que las células del epitelio bronquial se tiñeron en forma positiva dentro de las dos horas post-infección; a las 16 horas, observándose grandes zonas fluorescentes de epitelio bronquial. La tinción era intensa a las 72 horas post-infección y luego disminuyó. El antígeno también se detectó en los tabiques alveolares a las 4 horas de la infección y a las 24 horas había numerosas células fluorescentes en los alvéolos y los conductos alveolares. La tinción fluorescente en bronquiolos y alvéolos desapareció al noveno día. La Inmunofluorescencia en los bronquios puede involucrar casi el 100% de las células epiteliales (Haesebrouck y Pensaert, 1986). Típicamente, los bronquios y bronquiolos contienen exudado con células degeneradas y descamadas fluorescentes de la mucosa y neutrófilos.¹

Estudios realizados recientemente en cerdos privados de calostro, sugieren que la producción broncoalveolar de las citocinas, factor de necrosis tumoral e interleucina – 1, contribuyen a la aparición de los efectos típicos y a los cambios inflamatorios pulmonares después de la infección viral. En la mayoría de los estudios experimentales, la depuración del virus fue sumamente rápida. El virus de influenza porcina no pudo aislarse de pulmones u otros tejidos del aparato respiratorio al día siete o después. Usando técnicas de ELISA pueden detectarse anticuerpos específicos para influenza en suero al día tres y en los hisopos nasales al día cuatro.¹

Signos Clínicos

La IP clásica es una enfermedad de la pira, los signos de la enfermedad que se observan en la actualidad son esencialmente los mismos que cuando se describieron en los años 20 del

siglo pasado. El comienzo es súbito, después de un periodo de incubación de 1 a 3 días. La mayoría de los animales de la piara muestran signos al mismo tiempo, hay anorexia, inactividad, postración; los animales se agrupan y amontonan. También se observa respiración jadeante, laboriosa, entrecortada y respiración abdominal, sobre todo cuando los animales son obligados a moverse. La fiebre por lo común se encuentra en el rango de 40.5-41.7 °C. También puede observarse conjuntivitis, rinitis, descarga nasal y estornudos. Existe evidente pérdida de peso y debilidad relacionada con la anorexia e inactividad. La morbilidad es alta (cerca del 100%), pero la mortalidad es baja (por lo usual menos del 1%), a menos que haya infecciones recurrentes y/o los cerdos sean muy jóvenes. En general, la recuperación empieza entre los 5 y 7 días después del inicio de los signos clínicos y es tan súbita y notable como el comienzo. Los brotes agudos de IP clínicamente típica suelen limitarse a cerdos totalmente susceptibles, seronegativos.^{1, 7,14,36}

Además de la enfermedad clínicamente evidente, con frecuencia hay infecciones subclínicas, como lo indica la alta seroprevalencia de ambos subtipos en cerdos de acabado en ausencia de enfermedad respiratoria importante durante el periodo de engorda. Existen múltiples factores que pueden determinar el resultado clínico de una infección con virus de influenza, incluyendo nivel de inmunidad y edad, presión de infección, infecciones recurrentes, condiciones climáticas y el alojamiento. Aunque la infección ocurre durante todo el año, la enfermedad clínica se observa principalmente en las estaciones más frías. Las infecciones recurrentes se encuentran entre los factores más importantes que complican una infección con virus de influenza. Las infecciones secundarias por bacterias respiratorias, como *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Haemophilus parasuis* y *Streptococcus suis* tipo 2, complican la gravedad y curso de una infección con

virus de influenza. En hembras gestantes se han observado desordenes reproductivos durante la infección de influenza; observándose abortos durante el primer tercio de gestación. El virus se ha podido aislar de fetos abortados y placenta.^{1,7,15,28,33,36}

Lesiones

Las lesiones macroscópicas encontradas en la influenza porcina son fundamentalmente las correspondientes a una neumonía vírica. Los cambios se limitan a menudo a los lóbulos apical y cardiaco de los pulmones, aunque en casos graves más de la mitad del pulmón puede estar afectada. Las zonas afectadas son de color púrpura y están consolidadas, puede evidenciarse cierto grado de edema interlobulillar, las vías aéreas pueden estar llenas de un exudado fibrinoso teñido con sangre y los ganglios linfáticos del mediastino y bronquios suelen encontrarse agrandados, en casos graves puede haber pleuritis fibrinosa. Las lesiones de la influenza porcina natural son a menudo complicadas o enmascaradas por infecciones recurrentes, en especial bacterias.^{1,7,36}

Histológicamente, se observa una degeneración diseminada y necrosis del epitelio de bronquios y bronquiolos. Las luces de los bronquios, bronquiolos y alvéolos están llenas de un exudado que contiene células descamadas y neutrófilos, y más tarde principalmente monocitos. Además, hay hiperemia variable con dilatación de los capilares e infiltración de los tabiques alveolares con linfocitos, histiocitos y células plasmáticas. Una extensa atelectasia alveolar, neumonía intersticial y enfisema acompañan a estas lesiones, hay también infiltración celular peribronquial y perivascular, lesiones exudativas caracterizadas por alvéolos llenos de edema rico en proteínas y grandes macrófagos; bronquiolitis necrotizante que afecta principalmente los bronquiolos terminales; coágulos de células necróticas en los conductos alveolares y alvéolos; y lesiones caracterizadas por

proliferación de neumocitos tipo II, responsables de la epitelización alveolar y formación de membrana hialina en la luz de los conductos alveolares terminales.^{1,14}

Diagnóstico

Son necesarios el aislamiento del virus y/o la detección de anticuerpos específicos. Puede sospecharse de IP cuando hay un brote de enfermedad respiratoria aguda que involucra la mayoría o todos los cerdos en una piara, en especial en las estaciones más frías del otoño y comienzo del invierno. La influenza porcina debe diferenciarse de una variedad de enfermedades respiratorias del cerdo.^{1,5,7,10,36}

La mejor muestra para el aislamiento a partir de un animal vivo es mucosidad nasal obtenida por hisopado de los pasajes nasales, o en el caso de cerdos muy pequeños en los que es difícil introducir un hisopo en los pasajes nasales, puede obtenerse mucosidad faríngea por hisopado. Es más probable encontrar el virus en secreciones nasales y faríngeas durante el periodo febril que después que la fiebre ha desaparecido.

El aislamiento viral se realiza en huevos de gallina embrionados de 9 a 11 días de edad, los cuales siguen siendo un medio de cultivo confiable y barato para aislar el virus de influenza. El virus puede ser inoculado por vía intra alantoidea o intra amniótica, la temperatura de incubación varía entre 33 y 37 °C. Normalmente, los embriones infectados no mueren y la presencia del virus se demuestra después de 48 a 72 horas de incubación por la prueba de hemoaglutinación en los líquidos alantoideo y/o amniótico.^{1,5,7,10}

En el laboratorio se usan varios sistemas de cultivo de células para el desarrollo y diagnóstico del virus de influenza porcina. Estos incluyen células de riñón de ternero, de pulmón de feto de cerdo, de riñón canino, de riñón de cerdo, fibroblastos de embrión de pollo, células diploides humanas y conjuntivales de Chang. Otros sistemas de cultivo

celular incluyen una línea de células de oviducto porcino y una línea de células de testículo de cerdo. Los cultivos de traquea y pulmón de cerdo fetal, los del órgano epitelial nasal y cultivos de traquea de pollo, caballo y hurones soportan el desarrollo del virus de influenza porcina.^{1, 5, 7, 10,17}

Prevención y Control

En Europa, la vacunación contra el virus de influenza porcina es una práctica común. Las vacunas inactivadas elaboradas con virus completo y las vacunas de subcomponentes preparadas a partir del virus tratado con detergente, se encuentran en el mercado. Estas vacunas contienen cepas de virus de influenza H1N1 y H3N2 de origen humano. El componente H1N1, la cepa prototipo A/New Jersey/1/76, confiere un alto grado de protección contra la cepa “aviaria” H1N1 que se encuentra circulando actualmente en las poblaciones porcinas europeas. En cuanto al componente H3N2, debe considerarse con mucha precaución la cepa a ser incluida en la vacuna para proporcionar la mejor protección, debido a que varias cepas H3N2 circulan en las poblaciones porcinas. En los Estados Unidos se encuentra disponible una vacuna autorizada para la prevención de la IP, es una vacuna de aceite en agua que contiene un virus H1N1 no especificado, desarrollado para cerdos destetados y de cría. Las vacunas contra el VIP se administran por vía intramuscular y la protección se basa en la presencia de anticuerpos inhibidores de la hemoaglutinación en suero.^{1,7} Otra medida de control es la cuarentena de los animales de reemplazo que vayan a entrar en la piara y tomarles muestras para comprobar que no tienen anticuerpos contra el virus de influenza porcina.⁷

En México existen vacunas de virus inactivado monovalentes (MaxiVac[®]Flu) contra el subtipo H1N1 y bivalentes contra los subtipos H1N1 y H3N2 (End-Fluence[®]2 y FLUSURE[®]). Se recomienda vacunar dos veces a las hembras gestantes que nunca han sido vacunadas, durante las 5 y 3 semanas antes del parto para extender el tiempo de protección en los lechones; si ya han sido vacunadas con anterioridad, con solo una dosis de vacuna es suficiente.^{7,36}

Reportes en México

En México el aislamiento viral del subtipo H1N1 se realizó por primera vez en el año de 1982 durante un brote en una granja de cría y engorda en el estado de Puebla.^{34,35,36}

En un estudio realizado con sueros recolectados entre el 2003 y 2004, se determinó que en la zona del bajo de la República Mexicana existe una prevalencia del 56% hacia el subtipo H1N1 y 43% para el subtipo H3N2.³⁷

En el año 2005 se demostró que los estados que presentaron una prevalencia del 31 al 60% son Coahuila, D. F. y Sonora para el subtipo H1N1; mientras que para el subtipo H3N2, ese mismo porcentaje lo presentaron los estados de Coahuila, D.F., y Estado de México. Los estados que presentaron una mayor prevalencia para el subtipo H1N1 (del 61 al 100%) fueron Hidalgo, Estado de México, Jalisco, Michoacán, Morelos, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí y Tlaxcala. Para el subtipo H3N2 los estados en donde se encontró una prevalencia del 61 al 100% fueron Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Puebla Querétaro, San Luis Potosí, Sonora y Tlaxcala. En los estados de Yucatán y Oaxaca no se encontraron anticuerpos para ningún subtipo viral hasta el año 2003.^{34,35,36,37,38,39,40,41}

HIPÓTESIS

La técnica de Inhibición de la hemoaglutinación demostrará que existe seroprevalencia por arriba del 40% de la enfermedad de influenza porcina en la zona del Bajío de la República Mexicana.

OBJETIVOS

- 1.- Determinar mediante un monitoreo serológico la seroprevalencia del virus de influenza porcina en algunos municipios de tres estados de la zona bajío, de la República Mexicana.
- 2.- Identificar en un mapa geográfico la distribución de anticuerpos generados por cada subtipo viral.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras

El estudio se realizó con 2548 muestras serológicas provenientes de animales sin vacunar mayores a 150 días de edad, obtenidas por SAGARPA en diferentes rastros; durante el segundo semestre del año 2006, provenientes de 10 municipios del estado de Jalisco, 3 municipios pertenecientes al estado de Michoacán y 8 municipios del estado de Guanajuato. En el estudio se contó con una base de datos que permitió identificar el número de sueros por estado y municipio; una vez identificados se organizaron en forma consecutiva para su procesamiento mediante la técnica de Inhibición de la Hemoaglutinación.

Titulación Viral por Hemoaglutinación

Se utilizó el virus de diagnóstico de influenza porcina subtipos H1N1 y H3N2 que se encuentra almacenado en el laboratorio del Departamento de Producción Animal: Cerdos y se tituló por hemoaglutinación de la siguiente manera: Se tomaron 50 microlitros de PBS (Solución Amortiguadora de Fosfatos a pH de 7.0) y se colocó en todos los pozos de las placas con fondo en "U", se colocaron 50 microlitros del virus y se realizaron diluciones dobles seriadas de la fila A hasta la H; se depositaron 50 microlitros de eritrocitos de pollo al 0.5% hasta que el control de eritrocitos sedimente, lo que nos indicó el momento para realizar la lectura del título viral; el virus se ajustó a 8 Unidades Hemoaglutinantes para realizar la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (IH).

Tratamiento de los Sueros

Se tomaron 60 microlitros de suero y se le adicionaron 120 microlitros de caolín y 120 microlitros de eritrocitos de ave al 5%, para eliminar hemoaglutininas inespecíficas y posibles contaminantes. Se dejaron en refrigeración (4 °C) durante 24 horas para que sedimente el caolín y los eritrocitos; 24 horas después se extrajeron 50 microlitros de suero para confrontarlos con cada subtipo viral.

Inhibición de la Hemoaglutinación

Procedimiento de la prueba de inhibición de la hemoaglutinación.

- Se colocaron 50 microlitros de PBS en placas de 96 pozos fondo en “U”.
- De la hilera “A” a la “H” de la placa se colocaron 50 microlitros de cada suero problema y de los controles (positivo y negativo).
- Se realizaron diluciones dobles seriadas transfiriendo 50 microlitros (desde 1:10 hasta 1:1280).
- Se colocaron 50 microlitros de antígeno y se dejó incubar por 20 minutos.
- Se colocaron 50 microlitros de eritrocitos al 0.5% y se esperó a la sedimentación el control de eritrocitos.
- El título de los sueros se obtuvo en donde la máxima dilución presentó el 100% de sedimentación.

Resultado positivo: Un título positivo se considera de una dilución igual o mayor a 1:80.

Eritrocitos: Se utilizaron eritrocitos de pollo al 0.5% preparados en una solución amortiguadora de fosfatos (PBS) con un pH de 7.0 a 7.2.

Controles de suero: Se utilizaron suero control positivo para H1N1, suero control positivo para H3N2 y suero control negativo.

Control de virus: Se adicionaron 50 microlitros de virus y se diluyeron de la misma forma que el suero para identificar la presencia de hemoaglutinación.⁴²

Variables de Estudio

Número de animales positivos y negativos por subtipo y estado.

Prevalencia por estado.

Título de anticuerpos.

Análisis Estadístico

El porcentaje de animales positivos y negativos se analizaron a través de una χ^2 .⁴³

Una vez obtenidos los títulos de cada uno de los sueros, se registró toda la información en la base de datos y se convirtió en logaritmo base 10 (\log_{10}) para su análisis estadístico. Con los datos obtenidos se realizaron cuadros y gráficas que permitieron identificar la prevalencia de anticuerpos contra los subtipos virales en cada uno de los estados y municipios.

RESULTADOS

En el Cuadro 1, se muestra que la seroprevalencia en la región del bajío fue del 81.32% (2072 muestras) para el subtipo H1N1 y 38.97% (993 muestras) para el subtipo H3N2 con un total de 2548 muestras analizadas. Al realizar el análisis por estado, en Jalisco se observó que la seroprevalencia era del 81.81% para el subtipo H1N1 siendo la más alta de los tres estados y del 43.93% para el subtipo H3N2. El estado de Guanajuato presentó seroprevalencia de 80.42% para el subtipo H1N1 y 27.5% para el subtipo H3N2. El estado de Michoacán presentó 81.57% de seroprevalencia para el subtipo H1N1 y 44.42% para el subtipo H3N2. (Figura 1 y 2).

La diferencia entre literales (a y b) fue de $P=0.01$ lo cual indica que hay diferencia estadística en la circulación de ambos subtipos virales en la región. No se observó diferencia estadística en la circulación del un subtipo viral entre los diferentes estados, ni tampoco entre municipios. (Cuadro 1).

En el Cuadro 2, se muestra que en los 10 municipios analizados en el estado de Jalisco, la prevalencia fue del 81.81% (864 muestras positivas) hacia el subtipo H1N1 y de 43.93% (464 muestras positivas) hacia el subtipo H3N2.

Se observó que el Municipio de Mexicaltzingo tuvo un 100% de muestras positivas, valor muy cercano a los observados en los municipios de Acatic y Lagos de Moreno con el 97.4 y el 93.7% respectivamente. El municipio con menor prevalencia fue el de Zapopan con el 66.7%, registrándose valores seroprevalentes entre el 87.5 y 71.1% para el resto de los municipios. En cuanto al subtipo H3N2, la prevalencia mínima fue del 15.3% (Atotonilco, también tuvo una de las prevalencias más bajas hacia el subtipo H1N1) y la máxima del 86.8% (La Barca) (Figura 3).

En el Cuadro 3, se muestra que de 8 municipios evaluados del estado de Guanajuato la seroprevalencia fue del 81.57% (571 muestras positivas) hacia el subtipo H1N1 y de 44.43% (311 muestras positivas) hacia el subtipo H3N2. La prevalencia mínima para el subtipo H1N1 fue del 40% (Irapuato) y la máxima fue del 93.9% (Abasolo). Para el subtipo H3N2 la prevalencia mínima fue del 2.4% (Yuriria) y la máxima fue del 84.8% (Abasolo) (Figura 4).

En el Cuadro 4, se muestra que de tres municipios evaluados en el estado de Michoacán la prevalencia para el subtipo H1N1 fue del 80.43% (637 muestras positivas) y para el subtipo H3N2 del 27.53% (218 muestras positivas) (Figura 5).

La mínima seroprevalencia para el subtipo H1N1 fue del 54.9% (Puruándiro) y la máxima fue del 89% (Huandacareo). Para el subtipo H3N2 en los municipios de Puruándiro y La Piedad la prevalencia fue similar encontrándose 39.2% y 32.6% respectivamente, mientras que en el municipio de Huandacareo la prevalencia fue de 14.8% (Figura 5).

En la figura 6 se muestra el mapa de distribución de anticuerpos generada por cada subtipo viral en la zona del Bajío; observando que para el subtipo H1N1, la prevalencia alta se vio en la mayoría de los municipios de los tres estados evaluados, marcándose las prevalencias de cada municipio con color rojo (prevalencia del 61-100%). Para una mediana prevalencia se marcaron con un color amarillo (prevalencia del 31-60%) y una baja prevalencia se marcó de color verde (prevalencia del 0-30%) y ambas se observaron en la mayoría de los municipios de los tres estados para el subtipo H3N2.

DISCUSIÓN

En el año de 1996, Rodríguez *et al.*, realizaron un estudio a nivel de rastro en animales provenientes de los estados de Jalisco, Guanajuato y Michoacán, donde se demostró la presencia de anticuerpos contra el virus de IP subtipo H1N1 en el 20.25% de los animales muestreados (948 sueros).³⁵ En este estudio se observó una prevalencia de 81.32%, hacia el mismo subtipo, lo cual indica que después de 10 años la prevalencia de la enfermedad se ha incrementado 60% en dicha zona.

En el 2005, Carreón *et al.*, realizaron un estudio en el que se encontró que en la zona del bajío para el subtipo H1N1 había 56% de seropositividad y 43% para el subtipo H3N2.³⁷ Un año después el presente muestreo serológico indica que hubo una fuerte recirculación del subtipo H1N1 observando una seroprevalencia del 81.32%; no así para el subtipo H3N2, la cual disminuyó ligeramente al 38.9%.

La seroprevalencia en cada uno de los estados ha cambiado a través de los años, se ha reportado hacia el subtipo H3N2 una seroprevalencia del 62% para el estado de Jalisco, 12% en Guanajuato y 40% para Michoacán.⁴⁰ En el año 2004 la seroprevalencia en Jalisco fue del 50% hacia el subtipo H1N1 y de 50.8% para el subtipo H3N2; en el estado de Guanajuato se observó 10% para ambos subtipos y el estado de Michoacán presentó 38.3% de seroprevalencia para el subtipo H1N1 y 14.2% hacia el subtipo H3N2. Un año más tarde (2005), Jalisco presentó 73.6% de seroprevalencia hacia el subtipo H1N1 y 76.5% hacia el subtipo H3N2; Michoacán presentaba en ese año 94.1% para el subtipo H1N1 y 77.4% hacia el subtipo H3N2; sin embargo, no existe ningún reporte para ese año en el estado de Guanajuato.⁴¹ Estos reportes demuestran que en el estado de Jalisco la seroprevalencia ha sido la más alta hacia ambos subtipos hasta el año 2004 o anteriores, ya que en el año 2005,

Michoacán presentó la más alta prevalencia para el subtipo H1N1, y en el año 2006 nuestros resultados indican una seroprevalencia muy similar entre los estados de Michoacán y Jalisco hacia ambos subtipos virales (Fig. 3). Los resultados mostrados en estudios anteriores^{36,40} y los resultados obtenidos en esta investigación, demuestran que Guanajuato es el estado con menor seroprevalencia hacia el subtipo H3N2,⁴⁰ presentando también la menor seroprevalencia hacia los dos subtipos durante el año 2004, comparado con Jalisco y Michoacán reportado por Quezada *et al.*⁴¹

La comparación con otros estudios Mercado G. 2004, Carreón *et al.* 2005 y los resultados de esta investigación indican que la circulación del virus de influenza porcina se encuentra ampliamente difundida en la región Bajío de la República Mexicana, también nos permite identificar que el subtipo H1N1 es el más frecuente, ya que se encontró una alta seroprevalencia (Jalisco 81.81%, Guanajuato 80.42%, Michoacán 81.57%), comparado con el subtipo H3N2 (Jalisco 43.93%, Guanajuato 27.5%, Michoacán 44.42%), con excepción de la seroprevalencia hacia el subtipo H3N2 en el año 2004, la cual fue del 77% en el estado de Michoacán, una de las más altas prevalencias hacia este subtipo reportadas del año 2003 al año 2008.⁴¹

La identificación de las prevalencias en el mapa geográfico nos permite observar que en la zona del Bajío se encuentran prevalencias altas, esto está asociado a la gran cantidad de cerdos en la zona, en donde predomina la modalidad de ciclo completo y en su mayoría el tipo de granjas son semitecnificadas, lo cual facilita la presentación de problemas sanitarios.⁴⁴ Otro dato relevante, es que la zona bajío presenta movimientos de cerdos por la comercialización y abastecimiento hacia el distrito federal, con una amplia variedad de vías de comunicación que permite la diseminación de enfermedades durante el traslado de animales de un estado a otro.^{44, 45}

ANEXO

Cuadro 1. Seroprevalencia de los subtipos virales en los estados de Jalisco, Michoacán y Guanajuato

Estado	No Muestras	(+) H1N1	H1N1 (%)^a	(+) H3N2	H3N2 (%)^b
Jalisco	1056	864	81.81	464	43.93
Michoacán	700	571	81.57	311	44.42
Guanajuato	792	637	80.42	218	27.52
Total	2548	2072	81.32	993	38.97

Diferencia entre literales diferentes P = 0.01

Cuadro 2. Seroprevalencia de los subtipos virales en los municipios del estado de Jalisco

Municipio	Total de muestras	H1N1 (+)	H1N1 %	H3N2 (+)	H3N2 %
Mexicaltzingo	13	13	100	5	38.5
Acatic	192	189	97.4	67	34.9
Lagos de Moreno	32	30	93.7	16	50
Jesús María	8	7	87.5	4	50
Tepatitlán	384	314	81.8	231	39.8
Degollado	41	17	78	30	41.7
San Miguel el Alto	45	35	77.8	30	66.7
Atotonilco	288	222	77.1	44	15.3
La Barca	38	27	71.1	33	86.8
Zapopan	15	10	66.7	4	26.7
Total	1056	864	81.81	464	43.93

Cuadro 3. Seroprevalencia de los subtipos virales en los municipios del estado de Guanajuato

Municipio	Total de muestras	H1N1 (+)	H1N1 %	H3N2 (+)	H3N2 %
Abasolo	244	229	93.9	207	84.8
Uriangato	10	9	90	3	30
Pénjamo	169	136	80.5	82	48.5
Yuriria	207	166	80.2	5	2.4
Villagrán	15	11	73.3	2	13.3
Jaral	16	11	68.7	8	50
Irapuato	10	4	40	3	30
Salamanca	29	5	17.2	1	3.4
Total	700	571	81.57	311	44.43

Cuadro 4. Seroprevalencia de los subtipos virales en los municipios del estado de Michoacán

Municipio	Total de muestras	H1N1 (+)	H1N1 %	H3N2 (+)	H3N2 %
Huandacareo	263	234	89	39	14.8
La Piedad	427	347	81.3	139	32.6
Puruándiro	102	56	54.9	40	39.2
Total	792	637	80.43	218	27.53

FIGURAS

Figura 1. Seroprevalencia del virus de Influenza Porcina en la región del Bajío

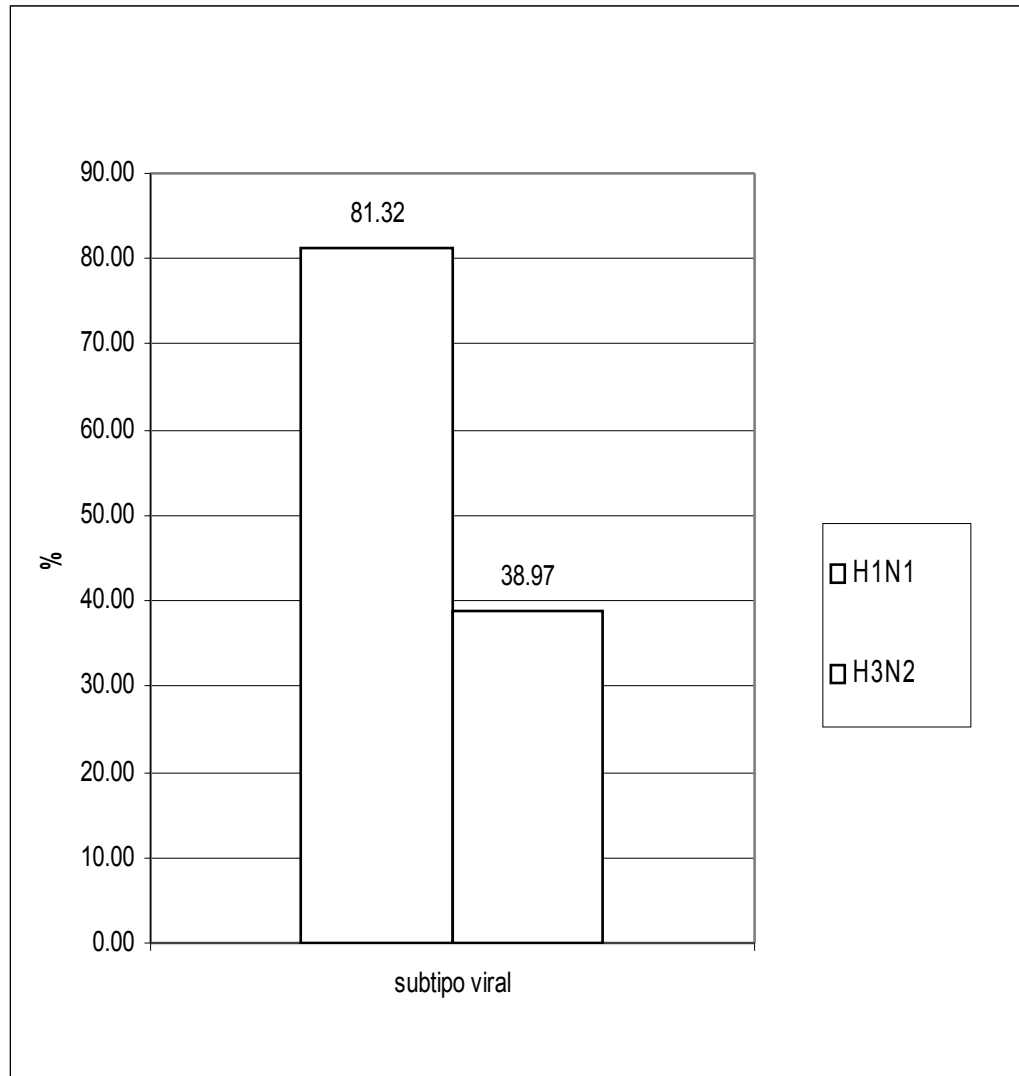


Figura 2. Seroprevalencia por estado del virus de Influenza Porcina en la región del Bajío

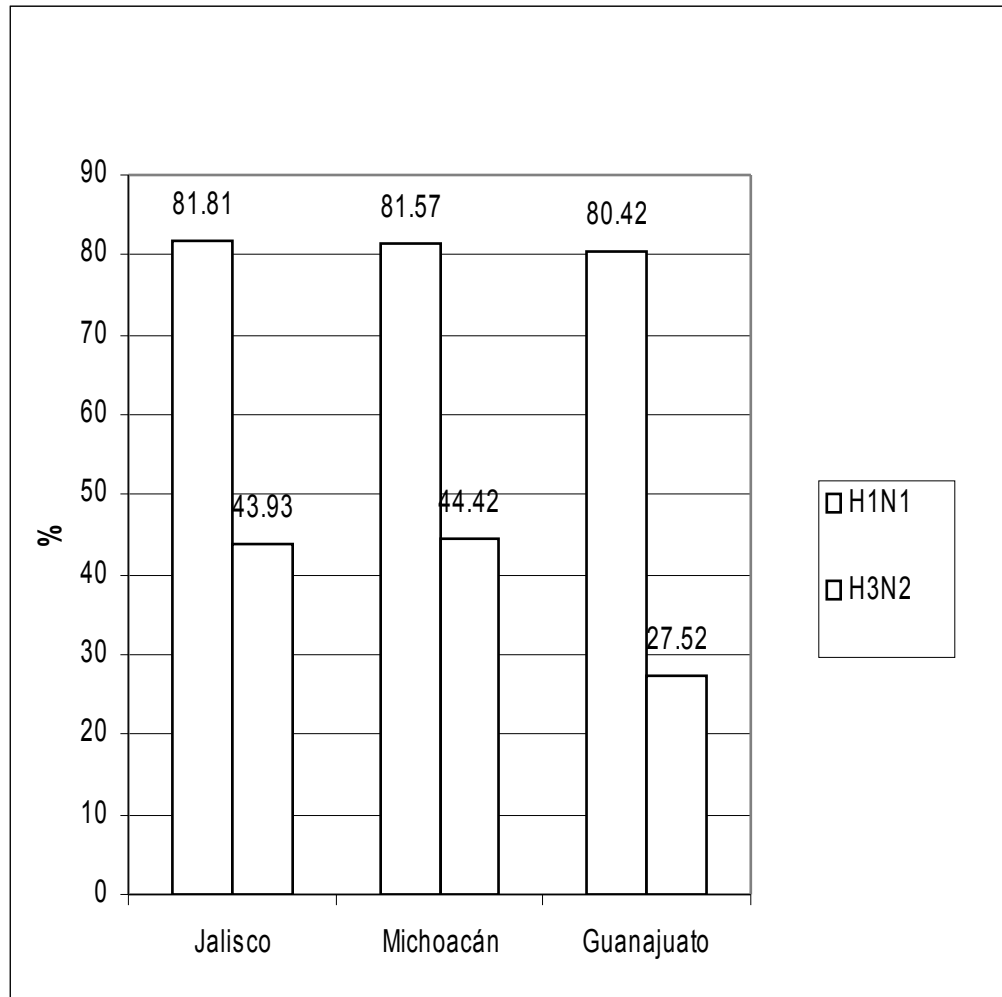


Figura 3. Seroprevalencia del virus de Influenza Porcina en el Estado de Jalisco

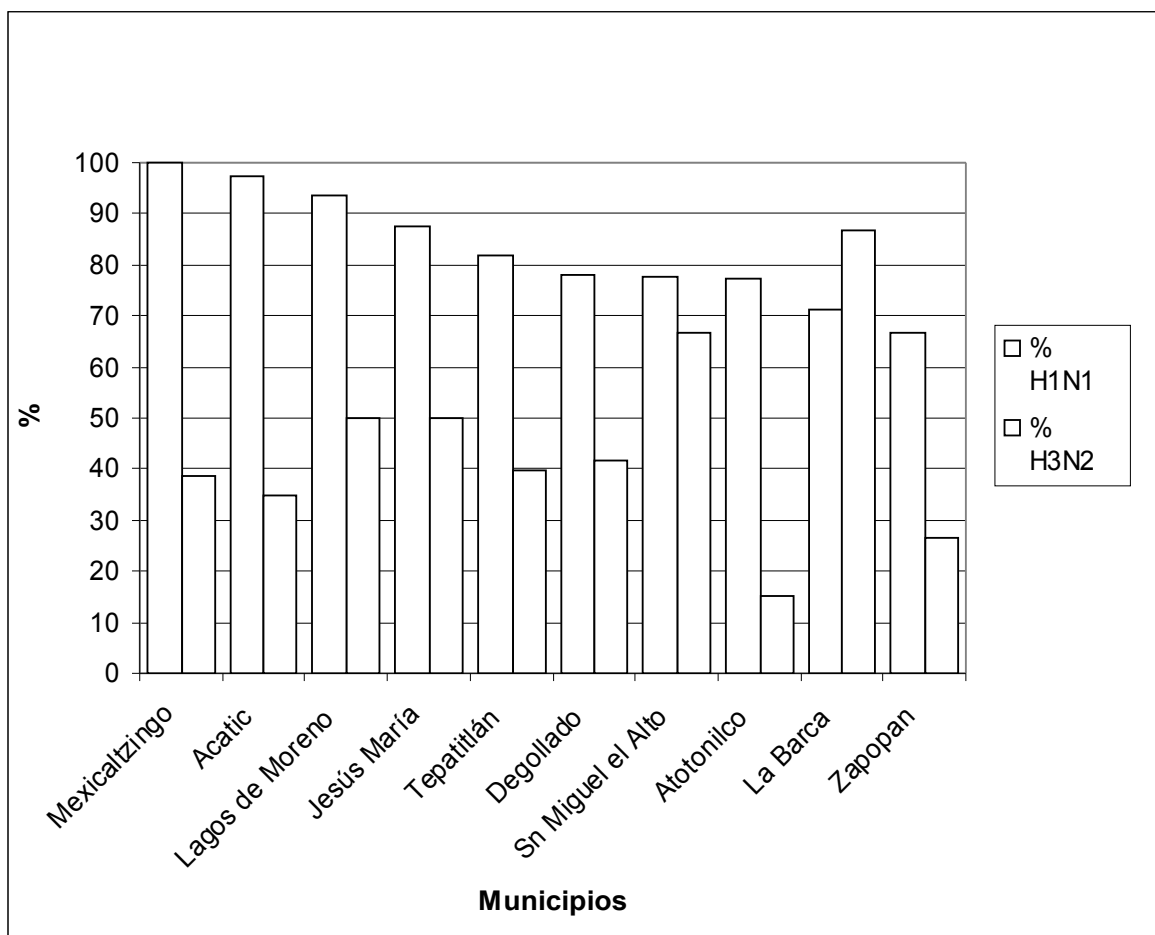


Figura 4. Seroprevalencia del virus de Influenza Porcina en el Estado de Guanajuato

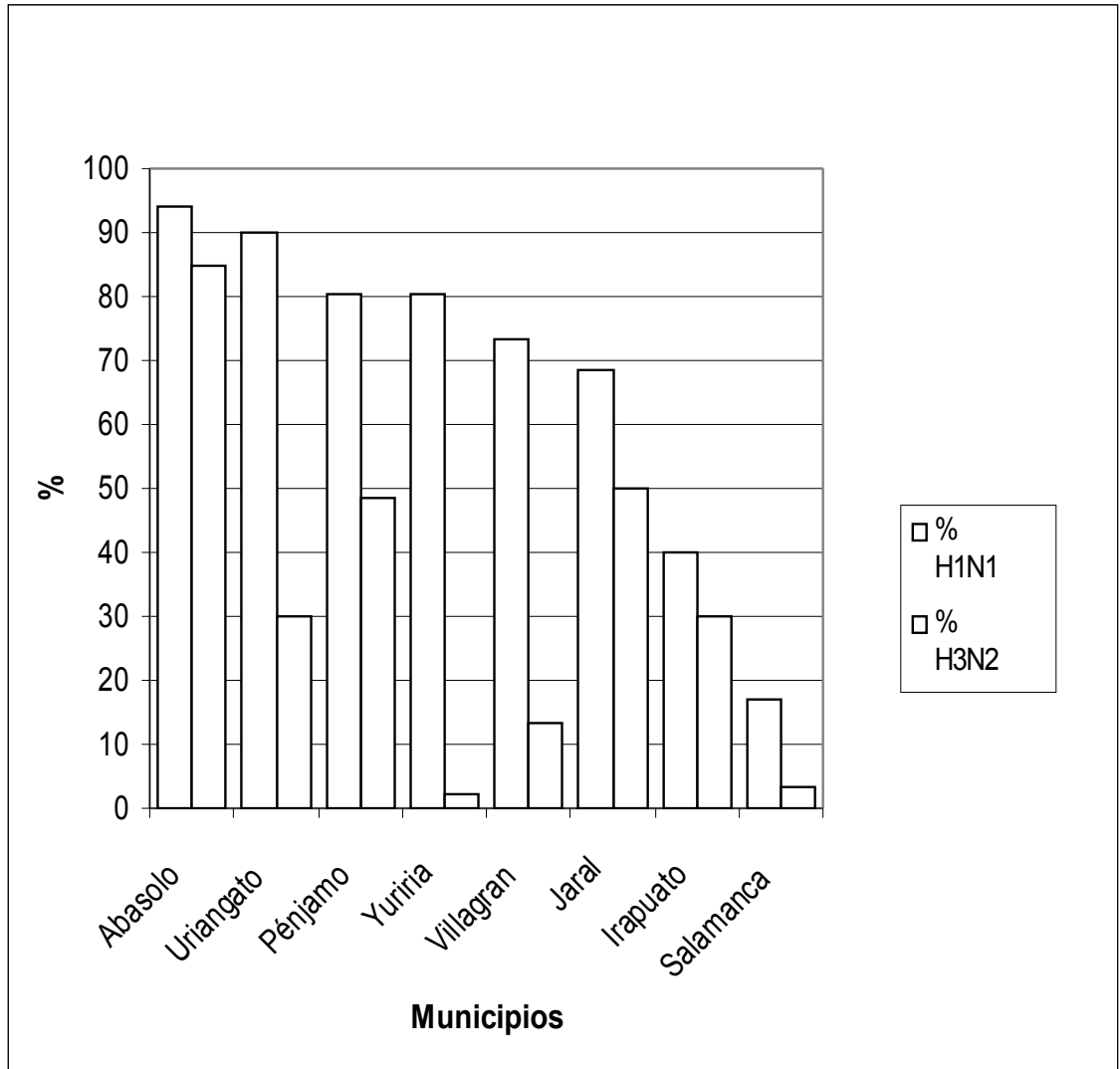


Figura 5. Seroprevalencia del virus de Influenza Porcina en el Estado de Michoacán

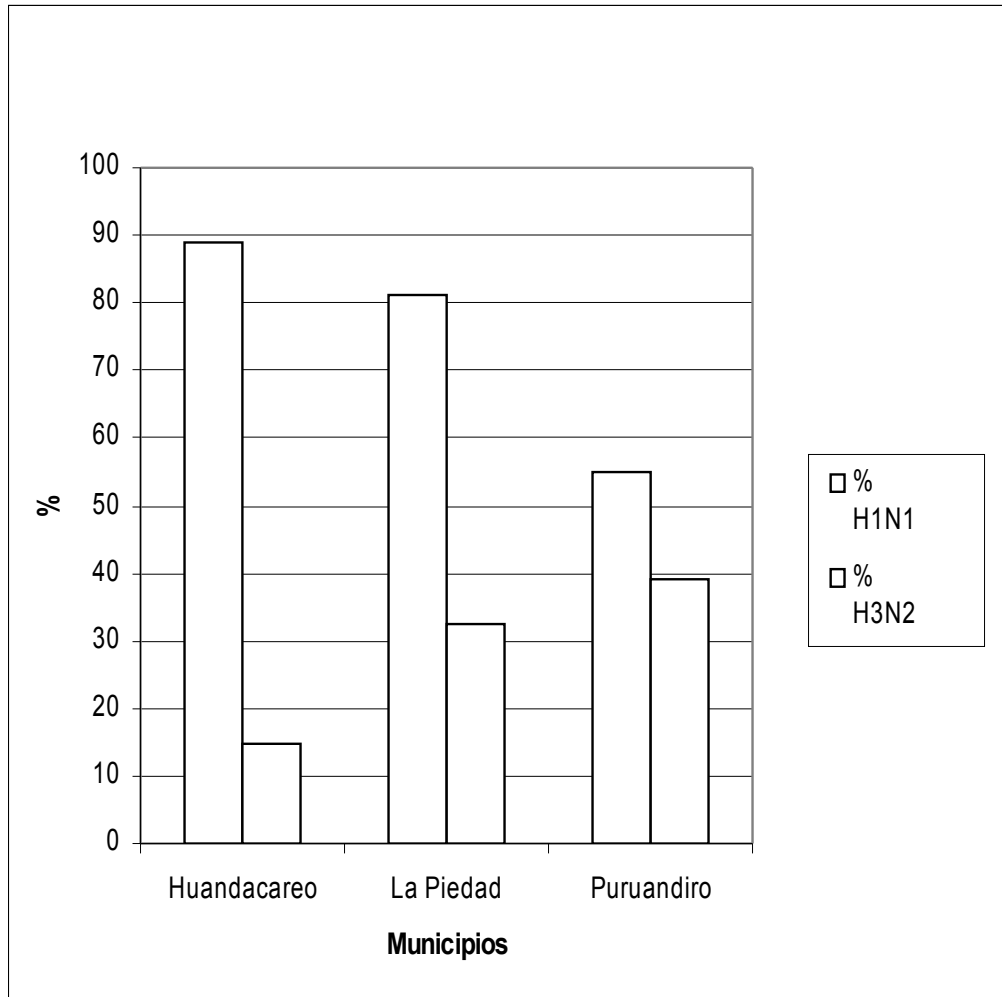
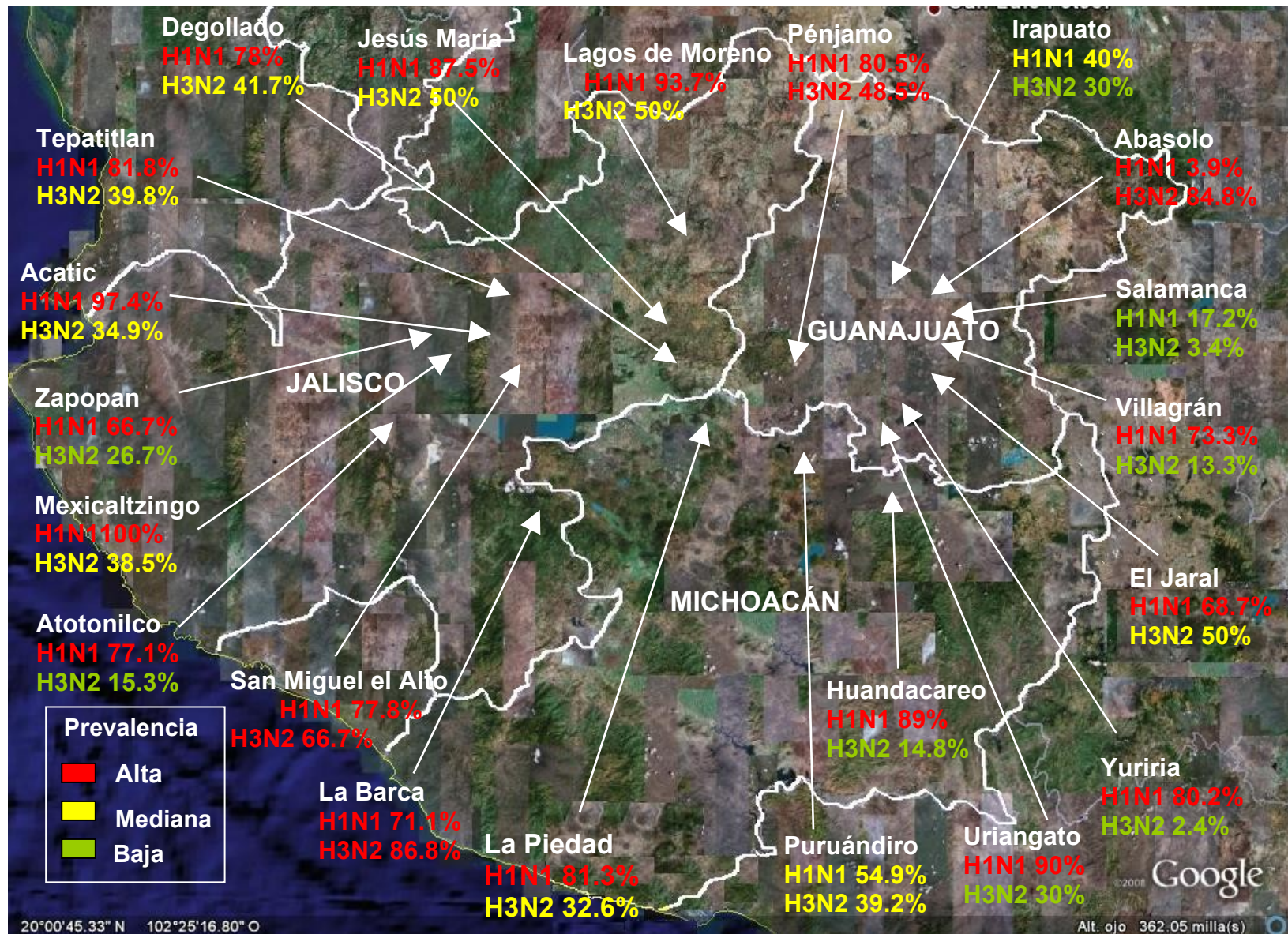


Figura 6. Mapa de distribución de anticuerpos generada por cada subtipo viral en la zona del Bajío de la República Mexicana



REFERENCIAS

1. Straw EB, D'Allaire S, Mengeling LW and Taylor JD. Diseases of swine. Ed. Iowa States Press. 8th Edition. Iowa. 2000: 277-290.
2. Cottral EG. Manual de métodos estandarizados en microbiología veterinaria. 1^a edición, Ed. La Prensa Médica Mexicana, Mexico. 1986: 164-167.
3. García RO. Enfermedades de los cerdos. 2^a reimpresión, Ed. Trillas, México. 2003: 112-114.
4. Taylor DJ. Pig Diseases. 7^a edición. St Edmundsbury Press Ltd, Bury St Edmundo, Suffolk, Great Britain. 1999: 50-53.
5. Plonait KH. Manual de las enfermedades del cerdo. 1^a edición, Ed. Acribia, Zaragoza, España. 2003: 128-133.
6. Burrows W. Tratado de microbiología. 19^a edición, Ed. Interamericana, México. 1969: 862-868
7. Morilla GA. Manual para el control de las enfermedades infecciosas de los cerdos. 2^a edición, Ed. Manual Moderno, México. 2005: 215-219.
8. Bruner WD. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. 3^a edición, Ed. La Prensa Médica Mexicana, México. 1977: 944-947
9. Merchant IA, Packer RA. Bacteriología y Virología Veterinarias. 3^a edición, Edit. Acribia, Zaragoza, España. 1975: 684-688.
10. Jawetz E. Microbiología e Inmunología Médica. 1^a edición, Ed. El Manual Moderno, México. 1992: 283-287.
11. Burdon IK. Microbiología. 1^a edición, Edit. Centro Regional de Ayuda Técnica para el Desarrollo Internacional, México. 1971: 741-744.

12. Van Epps HL. The Rockefeller University Press. Influenza: Exposing the true killer. JEM 2006 203 (4):803.
13. Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, Chambers TM, Kawaoka Y, Evolution and ecology of influenza A viruses. 1992 56(1): 152-179.
14. Van Reeth K. Avian and swine influenza viruses: our current understanding of the zoonotic risk. Vet. Res. 2007(38) 243-260.
15. Van Reeth K. Annebel DV. Constantinos K. Pensaert M Influenza in birds, pigs and humans: old theories versus current viewpoints. Proceedings of the 19 th IPVS Congress, Copenhagen, Denmark, 2006. Volume 1, pag. 26 -33.
16. Hampson AW, Mackenzie JS. The influenza viruses. MJA 2006 185 (10): 39-43.
17. Gramer MR. Defining swine influenza virus. Journal of Swine Health and Production, 2005; 13(3):157-160.
18. Webster RG. The importance of animal influenza for human disease. Vaccine. 2002 May 15; 20 Suppl 2:S16-20.
19. Slemons RD, Easterday BC. Type A influenza viruses in the feces of migratory waterfowl. J Am Vet Med Assoc. 1977 Nov 1;171(9):947-948.
20. Austin FJ, Webster RG. Evidence of ortho- and Paramyxoviruses in fauna from antarctica. Journal of Wildlife Disease 1993 29 (4): 568-571.
21. Bahl AK, Pomeroy BS, Mangundimedjo S, Easterday BC. Isolation of type A influenza and Newcastle disease viruses from migratory waterfowl in the Mississippi flyway. J Am Vet Med Assoc. 1977 Nov 1;171(9):949-951.
22. Arun KB, Pomeroy BS, Easterday BC, Mangundimejo S. Isolation of type A influenza viruses from the migratory waterfowl along the mississippi flyway. Journal of wildlife diseases. 1975 July; 11: 360-363.

23. Simpson VR. Wild animals as reservoirs of infectious diseases in the UK. *The Vet J.* 2002; 163: 128-146.
24. Alexander DJ. A review of avian influenza in different bird species. *Vet Microbiol.* 2000; 74: 3-13.
25. Alexander DJ, Brown IH. Recent zoonoses caused by influenza A viruses. *Revue Scientifique et Technique, Office Internationales des Epizooties.* 2000; 19: 197-225.
26. Dugan VG, Chen R, Spiro DJ, Sengamalay N, Zaborsky J, Guedin E, Nolting J, Swayne DE, Runstadler JA, Happ GM, Senne DA, Wang R, Slemons RD, Colmes EC, Taubenger JK. The evolutionary genetics and emergence of avian influenza viruses in wild birds. *PLoS Pathog.* 2008 May 30; 4 (5): 1-9.
27. Sims LD, Domenech J, Benigno C, Kahn S, Kamata A, Lubroth J, Martin V, Roeder P. Origin and evolution of highly pathogenic H5N1 avian influenza in Asia. *Vet. Rec.* 2005 Aug 6; 157 (6): 159-164.
28. Markowska D, Kowalczyk A, Pejsak Z, Swine influenza virus as reason of serious reproduction disorders. *Proceedings of the 19 th IPVS Congress, Copenhagen, Denmark, 2006. Volume 2 pag. 121-139.*
29. Songserm T, Amonsin A, Jam-on R, Sae-Heng N, Meemak N, Pariyothorn N, Payungporn S, Theambooniers A, Poovorawan Y. Avian influenza H5N1 in naturally infected domestic cat. *Emerging Infectious Diseases.* 2006 12 (4): 681-683.
30. Rimmelzwaan GF, Van Riel D, Baars M, Bestebroer TM, Amerongen G, Fouchier RA, Osterhaus DM, Kuiken T. Influenza A virus (H5N1) infection in cats causes systemic disease with potential novel routes of virus spread within and between host. *American Journal of Pathology* 2006 168 (1): 176-183.

31. Daesub S, Bokyu K, Chulseung L, Kwonil J, Gunwoo H, Dongseok K, Seongjun P, Bongkyun P, Jinsik O. Transmisión of avian influenza virus (H3N2) to dogs. *Emerging Infectious Diseases* 14 (5):741-746.
32. Leschnik M, Weikel J, Mostl K, Revilla Fernandez S, Wodak E, Bagó Z, Vanek E, Benetka V, Hess M, Thalhammer JG. Subclinical infection with avian influenza A (H5N1) virus in cats. *Emerging Infectious Diseases* 2007 13 (2):243-246.
33. Ayora TG, Cadavieco BJ, Bernardino CA, Serologic evidence of human and swine influenza in mayan persons. *Emerging Infectious Diseases*, 2005; 11(1): 158-160
34. Ramírez, S.M.; Aislamiento e identificación del virus de la influenza porcina en México. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 1981.
35. Rodríguez, J. Ramírez, H. Carreón, R. Mercado, C. Muestreo serológico a nivel de rastro para detectar anticuerpos contra el virus de la influenza porcina. *Veterinaria México* 1996, 27 (1): 17 – 21.
36. Mercado GC. Influenza Porcina. *Memorias Conferencia Veterinaria Mexicana*. 2006 1-9
37. Carreón, NR. Mercado, GC. Trujillo OM, Chávez, RS. Coexistencia serológica de los subtipos H1N1 y H3N2 del virus de influenza porcina en diferentes zonas de México. *Memorias del XL Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos (AMVEC)*; 2005; 13-17 de julio; León Guanajuato, México: Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, A.C. 2005: 197
38. Trujillo M.E. Carreón, R. Mercado, C. y Quezada, F. Determinación de anticuerpos contra el virus de la influenza H1N1 y H3N2 en sueros porcinos. *Memorias del XXXIX Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos (AMVEC)*;

- 2004; 28 de julio- 1 agosto; Mazatlán Sinaloa, México: Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, A.C. 2004: 181
39. Álvarez, M. Rodríguez, J. Ciprian, A. Rodríguez, L. Ayora, G. y Segura, J. Perfil serológico del virus de la influenza porcina, *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Actinobacillus pleuropneumoniae*, en granjas de Yucatán, México. *Veterinaria México* 2004, 35 (4): 295-305
40. Chávez, S. Carreón, R. Mercado, C. Determinación de anticuerpos contra el virus de influenza porcina subtipo H3N2 en diferentes estados de la república mexicana. *Memorias del XL Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos (AMVEC)*; 2005; 13-17 de julio; León Guanajuato, México: Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, A.C. 2005: 198
41. Quezada MJF, Castillo JH, Segalés CJ, Corre-Girón P, Ramírez MH. Estudio retrospectivo de Circovirus, Ojo Azul e Influenza porcina subtipo H3N2 en sueros de cerdo a partir de 1972 a 2000. *Memorias del IV Congreso Internacional de Epidemiología*; 2005; 6-8 de Octubre, Morelia Michoacán, México: Asociación Mexicana de Epidemiología Veterinaria, 2005.
42. Rockborn G, Klingerborn B, Juntti N. *Diagnostic Virology: Second part Guidebook to procedures*, Uppsala, Sweden. Editor. J. Moreno-López. 1990. pp 39-43.
43. Daniels W. *Bioestadística*. 4ª edición. Ed. Limusa, México. 2000: 592-594.
44. Pérez ER. *Granjas Porcinas y Medio Ambiente. Contaminación del agua en La Piedad, Michoacán*. 1ª edición, Ed. Plaza y Valdés editores, México. 2006: 29-56.
45. <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/> lunes 17 de noviembre del 2008 14:12 p.m.