

INFLUENZA EN PORCINOS DE ANTIOQUIA, COLOMBIA Y SU REPERCUSION EN LA SALUD HUMANA (1)

*Henry Hanssen Villamizar**

INTRODUCCION

Los virus de influenza están clasificados en el grupo de los ortomyxovirus (1); son virus que poseen ácido ribonucleico monocatenario y polisegmentado. Son relativamente grandes (800-1000 Å) y envueltos por una cubierta de lipoproteína, donde se ubican los antígenos superficiales (2).

En base a las diferencias antigénicas de su ribonucleoproteína (RNP) se conocen tres grupos virales: A, B y C. El tipo A, causa infección en el hombre, equinos, porcinos y aves; los tipos B y C aparentemente existen solamente en los humanos (3). Recientemente en la Unión Soviética se demostró evidencia serológica y aislamiento de virus de influenza Tipo B, a partir de porcinos de la región de Kiev (4).

El virus de Influenza posee dos antígenos internos estables: la nucleoproteína (NP) y la proteína de la matriz (MP); y dos antígenos superficiales variables: La hemaglutinina (HA) y la enzima neuraminidasa (NA) (2). Para los tipos A y B se conocen actualmente nueve polipéptidos codificados por el virus (5). De los antígenos de la envoltura, la hemaglutinina se conoce desde hace muchos años (6) y es el antígeno responsable de la infección celular y del estímulo para la producción de anticuerpos neutralizantes (7). La neuraminidasa se describió más recientemente (8) y tiene papel importante en la salida del virus de la célula (9) (10).

La variabilidad antigénica de los virus de Influenza ha sido plenamente demostrada (11) y en ella intervienen dos mecanismos diferentes: La fluctuación antigénica, que comprende modificaciones moderadas de

los antígenos superficiales del virus; y el cambio antigénico, que consiste en una modificación completa de uno de los dos antígenos mencionados (12). Como consecuencia del descubrimiento de esos antígenos, el Comité de Expertos en Influenza de la Organización Mundial de la Salud estableció una nomenclatura para indicar por separado las características de la hemaglutinina y la neuraminidasa (13).

Años antes de que se lograra el primer aislamiento de un virus de Influenza humana (14), se tenía conocimiento de que ésta ocurría en los humanos y que algunas epidemias anteriores habían tenido relación con enfermedades similares en los animales. Hirsch en 1833 (15), se refirió a epidemias simultáneas de Influenza en el hombre y los caballos, en Inglaterra. (1693), en Escocia (1732) y en Norte América (1733). Posteriormente Ricketson (1887) (16) describió la ocurrencia de una severa epidemia de Influenza humana en el estado de New York, concomitante con un brote del llamado moquillo equino.

Con anterioridad al hallazgo del primer virus gripal humano, la etiología viral de la Influenza de origen animal fué demostrada en cerdos por Shope (17). Posteriormente el mismo autor revisó su trabajo en porcinos y lo relacionó con la pandemia ocasionada por el virus asiático de 1957.

Los primeros indicios de que los virus de Influenza de la cepa Hong Kong, podían infectar a los cerdos en la naturaleza, fueron informados en Hungría, donde se encontraron sueros con anticuerpos para este virus (18). Posteriormente Kundin (19), demostró anticuerpos para el virus Hong Kong en cerdos de criaderos de Taiwan y aisló de ellos un virus indistinguible de esa

(1) Tesis Laureada del Programa de Magister en Microbiología Médica. Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina. Universidad de Antioquia, 1976.

(*) Actualmente Profesor Asociado.

cepa. Harkness *et al.* (1972) (20) hallaron evidencia serológica de infección en porcinos de 34 condados en 75 áreas investigadas de la Gran Bretaña.

Kundin y Easterday (1972) (21), informaron el hallazgo de anticuerpos para el virus gripal de 1968, en cerdos del estado de Wisconsin. Simultáneamente Beare *et al.* (1972) (22), describieron la infección experimental de voluntarios humanos, con la cepa de Influenza aislada por Kundin en Taiwan, Nakamura *et al.* (1972) (23), describieron la epidemiología de los virus de Influenza porcina en el estado de Wisconsin y encontraron pruebas de que la infección ocurría durante todos los meses del año con excepción de Junio.

El primer virus de Influenza equina fué aislado por Sominova *et al.* (1958) (24), en Checoslovaquia, y se denominó como A/equi/Praga/1/56 (Heq1 Neq 1). En Miami Waddell *et al.* (1963) (25), aislaron otro virus equino en caballos durante un brote epidémico en el estado de Florida. En Sur América la Influenza equina fué descrita por Pereira *et al.* (1972) (26), cuando se aisló virus gripal equino en caballos del hipódromo de Río de Janeiro.

En algunos países se han encontrado aves con evidencia serológica de infección por los virus A de Influenza. Winkler *et al.* (1972) (27) examinaron sueros de gansos silvestres de Canadá y hallaron anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación. Otros investigadores en Rusia y Australia han informado resultados similares en trabajos realizados con aves de esos países (28) (29).

Se han realizado varios trabajos experimentales en cuanto a la infección de otras especies animales por los virus de Influenza. Nikitin, *et al.* (1972) (30), lograron infectar perros con la cepa de virus Hong Kong y pudieron recuperarla de ellos varios días después. Trabajando en el mismo sentido Paniker y Nair (1972) (31), describieron experimentos en los cuales infectaron perros, gatos y monos con la virus A y B de la cepa Hong Kong. Tumova y Schild (1972) (32), realizaron un estudio detallado sobre la interrelación antigénica de los virus humanos, equinos y porcinos y encontraron que estos virus tienen interrelaciones complejas en la hemaglutinina y la neuraminidasa.

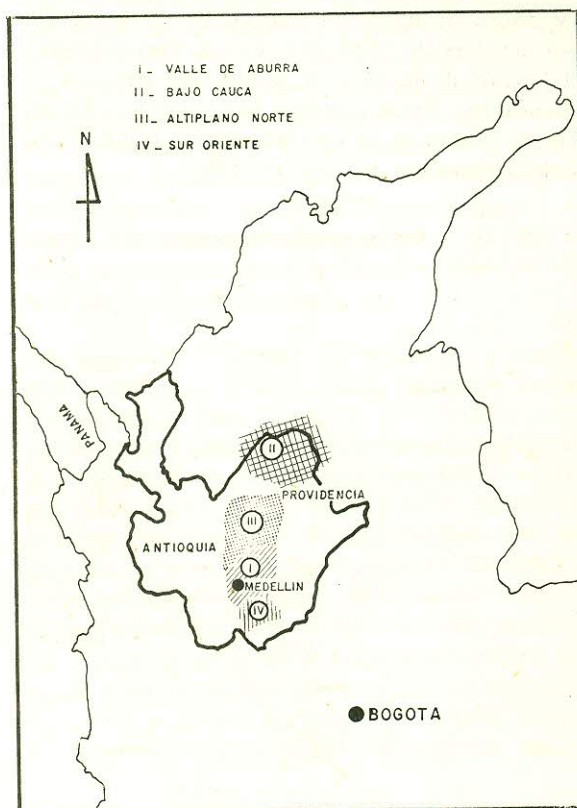
MATERIALES Y METODOS

Area del estudio:

El Departamento de Antioquia está situado en la parte nor-occidental del país. Para efectos del estudio se

dividió arbitrariamente en 4 zonas, de las cuales se examinaron sueros porcinos de 53 municipios. Estas áreas están representadas en las (Fig. 1,2).

FIGURA No. 1
LOCALIZACION GEOGRAFICA DEL DEPARTAMENTO DE ANTIOQUIA EN COLOMBIA



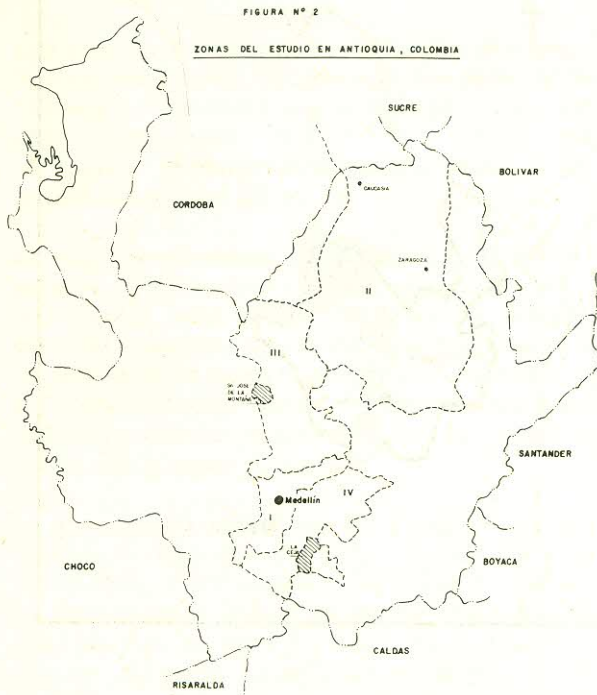
Descripción de las zonas:

Zona I:

Valle de Aburrá. Está situado a 1350 metros sobre el nivel del mar, en la Cordillera Central de los Andes. Su clima es cálido con una temperatura de 22°C. El promedio de precipitación pluvial anual es de 1371 mm. y la humedad relativa es de 62o/o. El río Medellín atraviesa el valle, el cual posee una gran concentración de ganado vacuno y porcino. Sobre el valle y en las márgenes del río está Medellín; allí están localizados varios municipios que conjuntamente tienen una población aproximada de 1.397.510 habitantes.

Zona II:

Bajo Cauca, Providencia-Zaragoza. Comprende dos regiones diferentes desde el punto de vista ecológico: El Bajo Cauca, conformando la región comprendida entre Puerto Valdivia (Antioquia) y Montería en el Departamento de Córdoba (Fig. 2). Esta región tiene una altura de 50 a 100 metros sobre el nivel del mar. Es caliente y húmeda: 23°C de temperatura promedio y 34o/o de humedad relativa. La precipitación pluvial anual es de 3639 mm. Es una región fundamentalmente dedicada a la producción pecuaria y constituida por fincas con muy buena producción de pastos. Su bosque es de tipo secundario, según el sistema de clasificación de Holdridge (33).



La región de Providencia - Zaragoza está comprendida por comunidades rurales situadas en el norte de Antioquia, en las estribaciones de la Cordillera Central de los Andes y con una altura promedio de 600 metros sobre el nivel del mar. La precipitación pluvial anual es de 4472 mm. El clima es cálido, 24.6°C y tiene una humedad relativa de 72.9o/o. Esta área se considera como una zona de transición entre bosque húmedo tropical y bosque muy húmedo tropical. La región tiene bosques primarios vírgenes y bosques secundarios con algunas zonas de cultivo.

Existen relativamente pocos animales domésticos, así como pocas áreas cultivadas y las poblaciones son muy subdesarrolladas.

Zona III:

Altiplano Norte: Está situado sobre una de las ramas de la Cordillera Central de los Andes y proyectada hacia el sur del Departamento de Córdoba: comprende principalmente municipios con alturas sobre el nivel del mar no inferiores a 1.800 metros y con un promedio de 2.500 metros. El clima es frío, 10°C en promedio, y casi siempre nublado. La precipitación pluvial es de 2872 mm. y la humedad relativa es de 82.4o/o. Es una región dedicada fundamentalmente a la cría de ganado de leche y a la explotación porcina. Las condiciones de la explotación en términos generales son muy inadecuadas y precarias.

Zona IV:

Sur Oriental: Comprende áreas entre los Municipios de Rionegro. La Ceja y Alejandría en el Oriente; y Santa Bárbara al Sur. En sus montañas existen mesetas que tienen una altitud promedio de 2.300 metros sobre el nivel del mar. El clima es frío, 14.9°C. La precipitación pluvial anual es de 1977 mm. y la humedad relativa es de 33o/o. También están en esta zona municipios situados en los declives de la cordillera y con alturas sobre el nivel del mar no inferiores a los 1.800 metros. La región está dedicada fundamentalmente al cultivo de las flores, frutales, agricultura menor, etc. La explotación porcina es buena y en mejores condiciones que la realizada en la Zona III. (34).

Estudio Serológico:

Se procesaron sueros de porcinos, existentes en el Banco de Sueros del laboratorio de Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Antioquia, correspondientes a los años 1971, 1972 y 1973 y obtenidos en las zonas mencionadas. Para el año de 1974 se estudiaron sueros de porcinos provenientes de las zonas III (Altiplano Norte) y IV (Sur Oriental), así como un grupo de sueros obtenidos en porcinos sacrificados en el Matadero Municipal de Medellín durante los meses de Marzo, Junio, Septiembre y Diciembre, provenientes de diferentes municipios de Antioquia.

Todos los sueros analizados se conservaron a -20°C, hasta su análisis. Se examinó un total de 709 sueros por virus A/Hong Kong/1/68 (H3N2). 663 para el virus A/Swine/Iowa/15/30 (Hswl Nswl) y 678 para el virus A/Swine/Wisconsin/4/73 (Hswl Nswl). Los sueros de los años 1973 y 1974 se analizaron adicionalmente para el virus A/England/42/72 (H3N2).

Obtención y Tratamiento de los Sueros.

Las muestras de sangre de los porcinos se obtuvieron asépticamente por punción de la vena cava derecha, después de haber inmovilizado al animal. La sangre se colectó en tubos secos, estériles y sin anticoagulante. Los sueros se separaron mediante remoción del coágulo y centrifugación a 2.500 r.p.m. por 10 minutos; posteriormente fueron inactivados en presencia de citrato de sodio al 2.50/o y luego se les ajustó el volumen con solución amortiguadora de fosfatos (P.B.S.) de pH 7.2, hasta obtener una dilución final de 1:10.

Todos los sueros examinados fueron tratados con enzima destructora de los receptores (R.D.E.) con el fin de remover los inhibidores inespecíficos de la hemaglutinación, de acuerdo con la técnica que recomienda el Comité de Expertos en enfermedades por virus respiratorios, de la Organización Mundial de la Salud (35). La enzima de vibrión colérico (R.D.E.) fué obtenida de "Microbiological Associates, Bethesda, Maryland, U.S.A."

Prueba de Inhibición de la Hemaglutinación:

Para la prueba de inhibición de la hemaglutinación (I.H.) se siguió el sistema de microtécnica, según el método de Takatsy (36), con las modificaciones adoptadas por el Comité de Expertos en enfermedades por virus respiratorios, de la Organización Mundial de la Salud (35). En cada prueba se utilizaron sueros controles negativos y positivos de título conocido. Los antígenos utilizados en cada prueba se usaron en diluciones que tuvieran 4 unidades hemaglutinantes (4 U.H.A.).

Como antígenos de las pruebas se utilizaron flúidos alantoideos de embriones de pollo de 9 a 11 días de edad, infectados con una cepa similar al virus A/Hong Kong/1/68 (H3N2), la cual fue aislada en 1970 en el Laboratorio de Virología de la Universidad de Antioquia y caracterizada como tal por el Centro Internacional de Influenza para las Américas, Atlanta Ca, E.U.A. El virus fué concentrado y parcialmente purificado mediante tres ciclos de absorción y elusión con eritrocitos de pollo, según la técnica de Lief y Henle (37). Los virus porcinos se utilizaron en forma de antígenos formalinizados que fueron preparados y suministrados gentilmente por el Doctor B.C. Easterday, del Departamento de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Wisconsin, Madison, Wis. E.U.A. El virus A/England/42/72 (H3N2), se obtuvo del Centro de Influenza para las Américas.

Estudio Viroológico:

Se intentó el aislamiento del virus a partir de 46 muestras de porcinos de la Zona III, procedentes de criaderos del municipio de San José de la Montaña; y en 64 porcinos del criadero San Pablo en el Municipio de La Ceja. (Fig. 2).

Las muestras se obtuvieron mediante escobillonaje nasofaríngeo de animales con o sin sospecha clínica de la enfermedad. Posteriormente se sumergieron en tubos que contenían caldo nutritivo o infusión de cerebro-corazón, estériles, con concentraciones adecuadas de antibióticos con el fin de prevenir el crecimiento bacteriano (1000 U.I. de penicilina — 1000 mgrs. de estreptomycin por ml). A continuación fueron congelados inmediatamente en una cajafermo que contenía hielo seco y posteriormente fueron transportadas hasta el laboratorio de Virología.

Las muestras se pasaron por separado, a través de filtros Millipore de 0.22 micras (Millipore Corporation, Bedford, Mass. U.S.A.) y se inocularon por vías amniótica y alantoidea en embriones de pollo de 10 días de edad (6 embriones por muestra). Los embriones se incubaron por 72 horas a 35°C, período después del cual fueron sacrificados dejándolos en refrigeración en nevera durante 2 horas. De los embriones correspondientes a cada muestra, se extrajeron los flúidos amniótico y alantoideo y se filtraron una vez más con el objeto de evitar falsos positivos en la prueba de hemaglutinación, debido a contaminación bacteriana. Enseguida se les realizó una prueba rápida de hemaglutinación para detectar la presencia de virus.

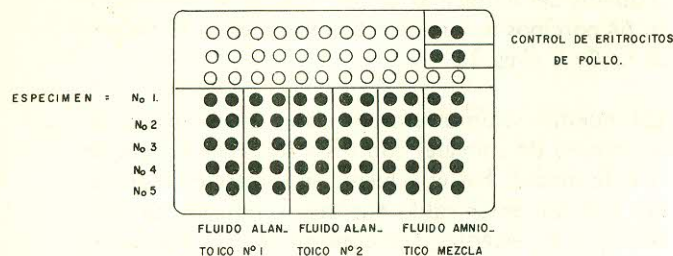
La prueba se realizó colocando sobre placas de fondo blanco una gota de eritrocitos de pollo al 10/o/o preservados en solución de Alsever con una gota de cada uno de los flúidos. La presencia definitiva de virus se determinó mediante una microprueba de hemaglutinación con eritrocitos de pollo al 0.50/o (Fig. 3). Los flúidos extraídos de los embriones fueron mantenidos entre pasaje y pasaje a temperatura de -70°C. Las muestras fueron consideradas como negativas si no se detectaba poder hemaglutinante después de tres pasajes.

Identificación de los Virus Aislados:

Del total de muestras estudiadas se aislaron 6 cepas virales, de las cuales se seleccionaron 2 con el objeto de identificarlas completamente en sus antígenos: ribonucleoproteína, hemaglutinina y neuraminidasa. Para la identificación del serotipo viral se prepararon

FIGURA N° 3.

MICROTITULACION PARA DETECTAR FLUIDOS
AMNIOTICOS Y ALANTOICOS HEMOAGLUTININANTES



antígenos de los virus de referencia: A/Hong Kong/1/68(H3N2), B/Hong Kong/5/72; y de los 2 virus seleccionados: para ello, se utilizó la técnica de Schild y Pereira (36), modificada por Dowdle (39).

Identificación del Serotipo Viral:

La ribonucleoproteína se identificó mediante la técnica de doble inmunodifusión en gel del agar según el método de Ouchterlony (48), modificado por Dowdle

(39) y adoptado por el Centro Internacional de Influenza para las Américas. En la prueba se utilizaron antisueros de referencia para los virus A y B, suministrados por el Centro anteriormente mencionado. Se utilizó también fluido alantoideo normal como control negativo.

Identificación de la Hemaglutinina:

La hemaglutinina se identificó enfrentando en inhibición de la hemaglutinación los 2 virus seleccionados y varios virus gripales de referencia, con sus antisueros homólogos y/o antisueros para recombinantes virales de referencia. Los virus y antisueros utilizados fueron:

Los antisueros para los 2 virus seleccionados se prepararon en pollos de raza Shaver y de 2 Kilogramos de peso. A cada animal se le inoculó por vía venosa, 5 ml. de fluido alantoideo infectado, con título de hemaglutinación no inferior a 1:160. Después de 10 días de la inoculación, los animales fueron sangrados totalmente. La sangre se dejó coagular a temperatura ambiente y los sueros se obtuvieron por centrifugación. Posteriormente los sueros se preservaron con azida sódica en una concentración final de 0.1o/o del volumen total del suero obtenido.

VIRUS

A/Hong Kong/1/68 (H3N2)

A/Port Chalmers/1/73 (H3N2)

A/England/42/72 (H3N2)

A/PR/S/34 (HONI)

A/Swine/Iowa/15/30 (Hswl Nswl)

A/Swine/Wisconsin/4/4 (Hswl Nswl)

B/Hong Kong/5/72

B/Victoria/98926/70

Desconocido No. 1

Desconocido No. 2

ANTISUEROS

Anti A/Hong Kong/1/68/ (H3N2)

Anti A/Port Chalmers/1/73 (H3N2)

Anti A/England/42/72 (H3N2)

Anti A/PR/8/34/ (HONI)

Anti A/Swine/Oowa/15/30 (Hswl Nswl)

Anti A/Swine/Wisconsin/4/73 (Hswl Nswl)

Anti B/Hong Kong/5/72

Anti B/Victoria/98926/70

Anti A/Hong Kong/ (H3 Neql)

Anti A/Port Chalmers/ (H3 Neql)

Anti desconocido No. 1

Anti desconocido No. 2

Los virus y antisueros utilizados para la identificación de la hemaglutinina se describieron de acuerdo con la nueva nomenclatura adoptada por el Comité de Expertos en Influenza de la Organización Mundial de la Salud (13). En esta nomenclatura la primera sigla significa el serotipo viral, la segunda el lugar de aislamiento, la tercera el número de cepa, la cuarta, el año de aislamiento y la quinta el subtipo de hemaglutinina y neuraminidasa.

Identificación de la Neuraminidasa:

La neuraminidasa se identificó mediante la prueba de inhibición de la neuraminidasa, la cual requirió el ensayo previo de la actividad de la enzima, sobre un sustrato rico en ácido N-Acetil Neuramínico (Fetuina). En ambos procedimientos se siguió la técnica de Aymard-Henry (41). La fetuina que se utilizó fue obtenida en un 50o/o del Centro Internacional de Influenza para las Américas y el resto se preparó localmente a partir de suero fetal bovino, mediante la técnica de Hamm y Puck (42).

La prueba de inhibición de la neuraminidasa se realizó enfrentando los 2 aislamientos seleccionados y los virus de referencia A/PR/8/34(HONI) y A/Port Chalmers/1/73 (H3N2), con antisueros específicos para las neuraminidasas de subtipo N.1 y N.2. Los antisueros de referencia fueron el anti A/Equi/Praga/1/56 (Neql) - PR/S/34 (N1) y el anti-A/Equi/Praga/1/56 (Heql)-Port Chalmers/1/73 (N2), preparados a partir de recombinantes virales y suministrados por el Centro Internacional anteriormente mencionado.

Análisis Estadístico:

El estudio serológico, se analizó mediante pruebas directas de $\bar{X}^2$. Se consideraron como parámetros fundamentales en los porcinos: el suero, la edad, la procedencia y el año de colección del suero. Los resultados serológicos para el virus A/Swine/Lowa5/30 (Hswl Nswl), en los años 1972 y 1974, se analizaron por pruebas de T. Student, siguiendo el método estadístico de Grist para el diagnóstico rápido de Influenza (43).

RESULTADOS

Estudio Serológico:

Se consideraron con evidencia serológica de infección, los porcinos que presentaron anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación con títulos superiores a 1:20. Los resultados con relación al sexo fueron los siguientes:

De 709 sueros examinados para el virus A/Hong Kong/1/68 (H3N2), el 9.0o/o mostró anticuerpos. De los porcinos examinados, 393 eran machos y 316 hembras. Solamente el 10.1o/o de los machos y el 7.9o/o de las hembras resultaron positivos. (Tabla 1).

Para los virus A/Swine/Iowa/15/30 (Hswl Nswl) y A/Swine/Wisconsin/4/73 (Hswl Nswl), se analizaron 663 y 678 sueros respectivamente. Los porcentajes de sueros positivos para estos virus fueron de 22.2o/o para el Iowa y de 21.5o/o para el Wisconsin. Alrededor del 50o/o de los porcinos examinados para estos dos virus eran machos y el resto hembras. (Tabla 1).

Con el virus A/England/42/72 (H3N2), se examinaron solamente 338 sueros, de los cuales 20.7o/o presentaron anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación. Los machos y hembras examinados fueron 192 y 146 respectivamente.

Los porcinos examinados presentaron edades que oscilaron desde unas pocas semanas hasta mayores de un año. El mayor número de animales examinados por cada virus, estaba en el grupo comprendido por los cerdos de 4 a 9 meses, mientras el menor fue el constituido por los mayores de 9 meses (Tabla 2).

Los porcentajes totales de sueros positivos para los virus porcinos en relación con la edad, fueron de 23.1o/o para el A/Swine/Iowa/15/30 (Hswl Nswl) y de 14.3o/o para el A/Swine/Wisconsin/4/73 (Hswl Nswl). Con los virus humanos de las cepas Hong Kong e Inglaterra, los resultados fueron del 5.4o/o y del 21.8o/o respectivamente. (Tabla 1, 2).

Para los virus A/Hong Kong/1/68 (H3N2) y A/Swine/Wisconsin/4/73 (Hswl Nswl), el o/o de sueros positivos en el grupo de porcinos menores de 4 meses fue significativamente diferente al porcentaje hallado en el grupo constituido por los mayores de 9 meses. (Tabla 2). La diferencia que se presentó entre estos dos grupos fue estadísticamente significativa en la prueba de $\bar{X}^2$, con una $p \leq 0.05$, para ambos casos.

Con el virus de Influenza porcina "clásica" de Wisconsin, los resultados también mostraron diferencias estadísticamente significativas al comparar el porcentaje hallado en el grupo de porcinos menores de 4 meses con los porcentajes de los grupos, de 4 a 9 meses y mayores de 9 (Tabla 2). La probabilidad con un sólo grado de libertad de la variable fue en ambos casos $p \leq 0.001$.

TABLA 1

DISTRIBUCION SEGUN SEXO, DEL NUMERO DE CASOS Y o/o DE POSITIVOS PARA ANTICUERPOS I.H.

(1) ANTIOQUIA, COLOMBIA. 1971-1974

ANTIGENOS UTILIZADOS	MACHOS		HEMBRAS		TOTALES	
	No.	o/o de Positivos	No.	o/o de Positivos	No.	o/o de Positivos
A/HONG KONG/1/68 (H3N2)	393	10.1	316	7.9	709	9.0
A/SW/IOWA/15/30 (Hswl Nswl)	352	20.7	311	23.7	663	22.0
A/SW/WIS/4/73 (Hswl Nswl)	373	15.0	305	11.4	678	21.5
A/ENGLAND/42/72 (H3N2)	192	19.7	146	21.8	338	20.7

(1) Sueros con anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación con títulos superiores a 1:20.

TABLA 2

DISTRIBUCION POR EDADES, DE NUMERO DE CASOS Y o/o DE POSITIVOS PARA ANTICUERPOS I.H. (1)

ANTIOQUIA, COLOMBIA. 1971-1974

ANTIGENOS	E D A D						TOTALES	
	4 MESES		4 - 9 MESES		9 MESES		No.	o/o de Positivos
	No.	o/o de Positivos	No.	o/o de Positivos	No.	o/o de Positivos		
A/HONG KONG/1/68 (H3N2)	233	12.4 (2)	288	8.7	188	5.3	709	5.4
A/SW/IOWA/15/30 (Hswl Nswl)	204	21.5	282	26.9	177	20.8	663	23.0
A/SW/WIS/4/73 (Hswl Nswl)	191	21.9 (3)	299	10.3 (3)	188	9.5	678	14.2
A/ENGLAND/42/72 (H3N2)	97	18.5	164	24.3	77	15.5	338	21.8

(1) Sueros con anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación con títulos superiores a 1:20

(2) Diferencia estadísticamente significativa $p \leq 0.05$ (3) Diferencia estadísticamente significativa $p \leq 0.001$

Para los virus A/Swine/Iowa/15/30 (Hswl Nswl) y A/England/42/72 (H3N2), los porcentajes para todos los grupos etáreos fueron homogéneos entre sí y no tuvieron diferencias estadísticamente significativas.

En relación con las zonas geográficas, los más altos porcentajes de sueros positivos para cada virus se presentaron en la zona I (Valle de Aburrá) mientras que los más bajos fueron de la zona II (Bajo Cauca).

Los porcentajes para la zona I, fueron superiores a 18.50/o. El porcentaje más bajo en la zona II fué de 2.10/o para la cepa de virus Hong Kong (Tabla 3).

Para cada uno de los virus estudiados; y cuando se comparan los porcentajes hallados para la zona I (Valle de Aburrá) con los porcentajes encontrados para la zona II (Bajo Cauca), se presentaron diferencias esta-

dísticamente significativas con un $p \leq 0.001$ para todos los casos, en la prueba de X².

Los porcentajes de sueros positivos para cada virus en el Valle de Aburrá fueron diversos y presentaron diferencias significativas con relación a los hallados en las zonas III y IV, con una $p \leq 0.01$, en cada caso. Los porcentajes encontrados en el Matadero de Medellín también fueron significativamente diferentes a los del Valle de Aburrá, con $p \leq 0.001$ para el virus A/Hong Kong/1/68 (H3N2); y $p \leq 0.02$ para cada uno de los otros virus.

Las zonas III y IV (Altiplano Norte y Sur Oriental) presentaron resultados bastante similares para cada uno de los virus. Estos hallazgos; junto con la información para el Matadero de Medellín, se pueden apreciar en la tabla 3.

TABLA 3

DISTRIBUCION DEL NUMERO DE CASOS Y o/o DE POSITIVOS PARA ANTICUERPOS I.H. (1)
EN 4 ZONAS GEOGRAFICAS Y EL MATADERO MUNICIPAL DE MEDELLIN,
ANTIOQUIA, COLOMBIA. 1971 - 1974

ANTIGENOS UTILIZADOS	I(2)		II(3)		III		IV		V(4)		TOTALES	
	VALLE DE ABURRA		BAJO CAUCA		ANTIPLANO NORTE		SUR ORIEN- TAL		MATADERO MUNICIPAL			
	No.	o/o de Positivos	No.	o/o de Positivos	No.	o/o de Positivos	No.	o/o de Positivos	No.	o/o de Positivos	No.	o/o de Positivos
A/HONG KONG/1/68 (H3N2)	135	18.5	194	2.0	122	14.7	138	10.1	120	3.3	709	9.7
A/SW/IOWA/15/30 (Hswl Nswl)	119	43.4	164	10.4	122	17.2	138	26.0	120	18.3	663	23.0
A/SW/WI/4/73 (Hswl Nswl)	124	25.0	174	4.5	122	13.9	138	15.2	120	11.6	678	14.0
A/ENGLAND/42/72 (H3N2)	30	40.0	20	—	76	10.5	92	13.0	120	31.6	338	19.0

(1) Sueros con anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación con títulos superiores a 1:20

(2) Zona I Vs. Zona II diferencia estadísticamente significativa para todos los virus $p \leq 0.001$

(3) Zona I Vs. Zonas III y V diferencias estadísticamente significativas para todos los virus $p \leq 0.01$

(4) Zona I Vs. Matadero de Medellín diferencias estadísticamente significativas A/Hong Kong/1/68 (H3N2) $p \leq 0.001$
Otros virus $p \leq 0.002$

TABLA 4
DISTRIBUCION DE NUMERO DE CASOS POR AÑO Y o/o POSITIVOS PARA ANTICUERPOS I.H. (1)
ANTIOQUIA, COLOMBIA 1971-1974

ANTIGENOS UTILIZADOS	AÑO									
	1971		1972		1973		1974		1975	
	No.	o/o de Positivos	No.	o/o de Positivos	No.	o/o de Positivos	No.	o/o de Positivos	No.	o/o de Positivos
A/HONG KONG/1/68 (H3N2)	150	15.0 (2)	207	14.0	120	6.6	232	4.3 (2)	709	9.9
A/SW/IOWA/15/30 (Hswl Nswl)	126	7.9	187	32.0 (3)	118	14.5	332	25.4 (3)	663	19.9
A/SW/WIS/4/73 (Hswl Nswl)	148	13.5	180	16.6	118	12.7	232	11.2	678	13.5
A/ENGLAND/42/72	—	—	—	—	106	11.3	232	25.0	338	18.1

(1) Sueros con anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación con títulos superiores a 1:20

(2) Diferencia estadísticamente significativa $p \leq 0,01$

(3) Diferencia estadísticamente significativa $p \leq 0,001$

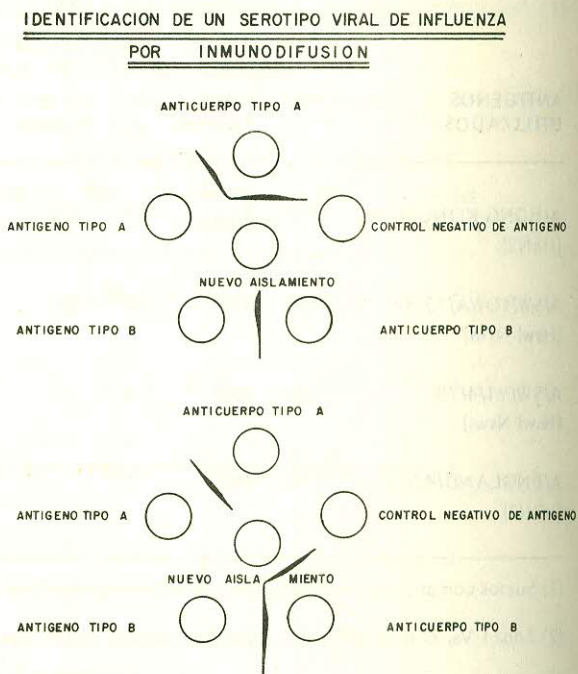
La distribución de sueros positivos por año fué diferente para cada virus. Los resultados para los virus humanos A/Hong Kong/1/68 (H3N2) y A/England/42/72 (H3N2), presentaron una relación inversa. Con el virus gripal de Hong Kong los porcentajes disminuyeron secuencialmente de 1971 a 1974, mientras que los porcentajes hallados con la cepa de Inglaterra, para la cual se analizaron únicamente los sueros de los años 1973 y 1974, aumentaron de un año a otro (Tabla 4).

El virus A/Swine/Iowa/15/30 (Hswl Nswl) presentó mayores porcentajes de sueros positivos en los años 1972 y 1974; resultados que fueron estadísticamente significativos, en relación con los otros dos años estudiados. Los porcentajes para el virus A/Swine/Wisconsin/4/73 (Hswl Nswl) no variaron mucho en cada uno de los años estudiados. Los resultados completos se presentaron en la tabla 4.

Aislamiento de Virus:

Del total de muestras estudiadas se aislaron 6 cepas virales de Influenza, que fueron todas del tipo A. (Fig. 4,5).

FIGURA N° 4



(a)
TABLA N° 5
IDENTIFICACION DE LA HEMAGLUTININA
MEDIANTE I. H.

ANTIGENO (b)	ANTISUERO (c)											
	A/HK/68	A/PC/73	A/Eng/72	A/PR/8/34	A/Iowa/30	A/Wis/73	B/HK/72	B/Vic/70	A/HK-Neg1	A/PC-Neg1	Desc. No. 1	Desc.No.2
A/HK/1/68 (H3 N2)	640	10	20	10	10	10			640	20	10	20
A/PC/1/73/(H3N2)	40	640	20	10	10	10			40	640	10	20
A/Eng/42/72 (H3N2)	10	20	320	10	10	10			10	20	320	320
A/PR/8/34 (HONI)	10	10	10	128	40	40			10	10	10	10
A/IOWA/15/30(Hew1New1)	10	10	10	40	640	40			10	10	10	10
A/Wis/4/73(Hew1New1)	10	10	10	40	40	640			10	10	10	10
B/HK/5/72					10	10	128	40				
B/Victoria/98926/70					10	10	40	128				
DESCONOCIDO No. 1	10	20	320	10	10	10			20	40	320	320
DESCONOCIDO No. 2	20	40	320	10	10	10			40	40	320	320

(a) Resultados expresados como recíproco de la media geométrica del título de la prueba realizada por duplicado. Los espacios en blanco significan prueba negativa.

(b) Se utilizaron 4 U. H.A. de antígeno

(c) Antisueños preparados en pollos y tratados con R. D. E.

* Antígenos formalinizados

Identificación de la Hemaglutinina:

Las pruebas de inhibición de la hemaglutinación de las 2 cepas seleccionadas, con los antisueros de los virus de referencia; y con sus antisueros homólogos, mostraron que el subtipo de hemaglutinina correspondió al grupo H3. (Tabla 5).

Identificación de la Neuraminidasa:

La actividad enzimática óptima de la neuraminidasa para cada uno de los virus estudiados correspondió a las siguientes diluciones: 1:8 para el virus A/OR/8/34 (HON1); 1:10 para el virus A/Port Chalmers/1/73 (H3N2) 1:16 para el virus desconocido No. 1 y 1:4 para el virus desconocido No. 2 (Fig. 6). Las pruebas de inhibición de neuraminidasa mostraron que la enzima de los dos virus estudiados era del subtipo antigénico No. (Tabla 6 y fig. 7).

DISCUSION

La creencia en la capacidad de predecir pandemias de Influenza es bien difundida; por eso virólogos y epidemiólogos son instados con alguna frecuencia a pronosticar acontecimientos futuros. Hasta el presente esos pronósticos se han basado principalmente en la es-

tructura antigénica de los virus comunes aislados previamente y en los estudios de anticuerpos específicos para cepas virales semejantes, en poblaciones humanas y animales.

En esta discusión se analizan los resultados de un estudio serológico y virológico sobre Influenza en porcinos del trópico suramericano; y se discuten las teorías sobre el origen de nuevos subtipos virales de Influenza con potencial epidémico.

El estudio serológico mostró que los porcinos de ambos sexos del Departamento de Antioquia, se afectaron indiscriminadamente. El análisis estadístico de los resultados no reveló datos significativos para ninguno de los 4 virus estudiados, lo cual indica que los porcinos de ambos sexos estuvieron igualmente expuestos a la infección. Estos hallazgos concuerdan con los estudios realizados en Estados Unidos y Gran Bretaña. (41) (19).

Para los virus A/Hong Kong/1/68 (H3N2) y A/Swine/Wisconsin/4/73 (Hswl Nswl) los porcentajes por edad fueron significativamente mayores en el grupo de porcinos menores de 4 meses, en relación a los otros dos grupos etáreos estudiados. Para el virus gripal originario de Iowa y la cepa humana de Inglaterra, no se observaron diferencias entre los porcentajes ha-

FIGURA N° 6.
ENSAYO DE ACTIVIDAD DE NEURAMINIDASA

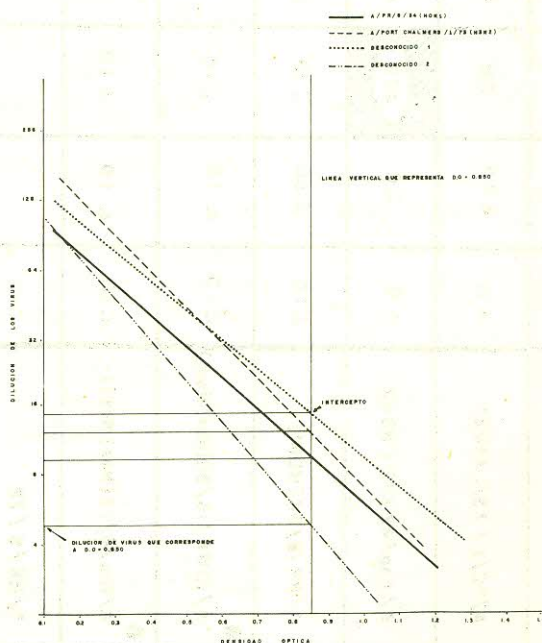


TABLA 6

RESULTADOS DE LA CARACTERIZACION DE LOS VIRUS DESCONOCIDOS MEDIANTE INHIBICION DE LA NEURAMINIDASA

VIRUS UTILIZADOS	ANTISUEROS UTILIZADOS	
	Heq 1-PR/8 (1) (N 1)	Heq 1-PC (2) (N 2)
A/PR/8/34 (HON 1)	1.492	57
A/PORT CHALMERS/1/73 (H3N2)	110	504
Desconocido No. 1	166	438
Desconocido No. 2	82	485

(1) Antisero preparado contra la recombinante viral A/equine/Praga/1/56 (Heq 1)-PR/8/31 (N1).

(2) Antisero preparado contra la recombinante viral A/equine/Praga/1/56 (Heq 1)-Port Chalmers/1/73 N2).

llados en los tres grupos etáreos; pero los porcentajes encontrados para estos virus en el grupo de menor edad fueron elevados.

Los altos porcentajes de sueros positivos en el grupo de porcinos menores de 4 meses pudieron ser influenciados por la presencia en ese grupo etáreo, de cerdos en período de lactancia a los cuales la madre les transfirió anticuerpos. En relación con los otros grupos de edad, los porcinos presentaron muchas variaciones individuales en la respuesta de anticuerpos y éstas fueron detectadas prácticamente en todas las edades.

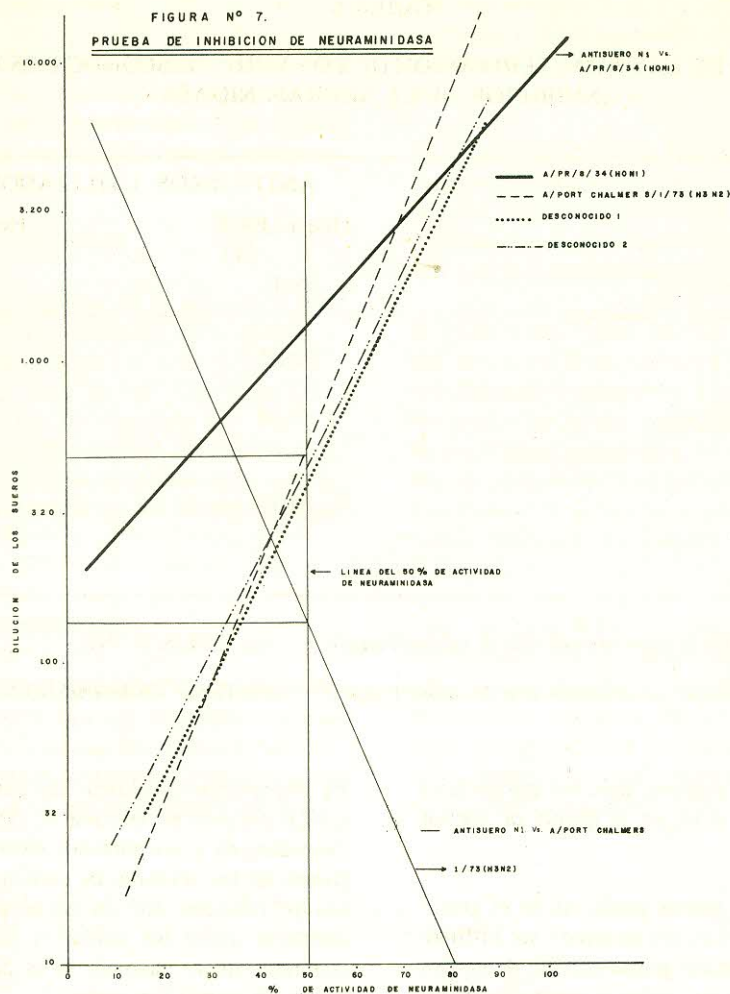
La zona geográfica que presentó mayores porcentajes de sueros positivos para cada virus fué el Valle de Aburrá siguiendo en orden decreciente las zonas III y IV y finalmente la zona II. Los resultados encontrados para el matadero municipal son un reflejo de la situación general del departamento.

Las grandes diferencias hallados para las zonas III y IV (Altiplano Norte y Sur Oriental), con relación a la zona II (Bajo Cauca), se debieron probablemente a las condiciones climáticas tan diferentes de esas zonas. El clima cálido de la zona II, no fué factor favorable para una circulación eficiente de los virus, máxime si se tiene en cuenta que los orthomyxovirus son muy termolábiles.

Es interesante considerar las condiciones de la explotación porcina en la zona II, donde se hace en forma desordenada y los porcinos viven más libremente y no tienen las condiciones de confinamiento de los criaderos delimitados. Allí en esa zona las oportunidades de contacto entre un animal y otro son menores; por consiguiente el paso de virus de un animal a otro se hace con menor frecuencia.

En el Altiplano Norte y la zona Sur Oriental los cerdos viven confinados a criaderos y los animales tienen estrecho contacto entre sí; comen sobre lugares comunes y con frecuencia los enfermos tosen o estornudan sobre los alimentos o sobre otro animal, proporcionando una mayor oportunidad para la transmisión de los virus. Las condiciones anteriores y las bajas temperaturas de esas zonas favorecen considerablemente el sostenimiento de los virus en forma enzoótica. Las epizootemias se presentan entonces cuando las poblaciones de animales susceptibles aumentan, bien por el nacimiento de nuevos ejemplares, bien por la introducción al criadero, de cerdos provenientes de otras zonas libres de Influenza.

Se encontró también que los más altos porcentajes de sueros positivos para cada virus se presentaron en el Valle de Aburrá (Zona I), de condiciones climáticas aparentemente no muy favorables para el sosteni-



miento de los virus en la naturaleza. Este fenómeno juega desde luego papel importante en el mantenimiento del virus, pero esos altos porcentajes encontrados son explicable considerando que en el Valle de Aburrá, la explotación porcina es a gran escala y en condiciones de confinamiento.

Los altos porcentajes de anticuerpos encontrados para los virus de Influenza porcina "clásica" en esa zona, se justifican si se considera que la enfermedad probablemente se introdujo en ella desde el exterior, en años anteriores. Tradicionalmente la Influenza "clásica" de los cerdos ha sido del Norte del Continente Americano, áreas de donde precisamente se han realizado importaciones de cerdos a nuestro país con el objeto de mejorar las razas locales.

Del mismo modo, el mercado de porcinos en el Valle de Aburrá es mayor que en las otras zonas estudiadas,

lo cual permite una mejor y más rápida distribución de la enfermedad por el traslado de cerdos de un lugar a otro.

Los altos porcentajes de positividad para los virus gripales humanos de Inglaterra y Hong Kong, en la zona I, son explicable si se considera la permanente introducción de virus a las porquerizas por intermedio de humanos portadores. Es interesante comentar que la evidencia serológica de infección en los humanos para estos dos virus es también superior en esa zona con relación a áreas rurales menos desarrolladas (44).

La infección de los cerdos con los virus estudiados, se presentó en todos los años; mientras que el virus A/Swine/Wisconsin/4/73 (Hsw1 Nsw1) circuló de una manera muy homogénea en todos los años como muestran los porcentajes de sueros positivos hallados. El virus A/Swine/Iowa/15/30 (Hsw1 Nsw1) presentó

porcentajes de sueros positivos significativamente mayores en los años 1972 y 1974, sugiriendo para esos dos años períodos epizootémicos. El análisis estadístico de los resultados comprobó las epizootemias.

Los virus gripales humanos de Hong Kong e Inglaterra mostraron relación inversa de circulación en los porcinos. En los datos obtenidos se aprecia cómo el virus A/Hong Kong/1/68 (H3N2) disminuyó paulatinamente su circulación en cada año, hasta el punto de que para 1974 el o/o de sueros positivos sólo alcanzó ser de 4.3o/o.

El virus A/England/42/72 (H3N2) probablemente empezó a circular en nuestro país en el último período invernal de 1972 y se fué introduciendo en la población porcina en 1973; distribuyéndose más ampliamente en 1974, donde el porcentaje de sueros positivos fué de 25.0o/o. Estos resultados son similares a los obtenidos por otros investigadores en Europa y los Estados Unidos, donde prácticamente el virus de Hong Kong ha dejado de circular en los porcinos y ha sido reemplazado por la cepa de Inglaterra (45).

Lo que muy probablemente ha ocurrido en el trópico, ha sido que la cepa gripal de Hong Kong fué reemplazada un poco más tarde por la variante de Inglaterra, debido a un retraso en la introducción del virus a nuestro país y a la irregularidad de las condiciones climáticas tropicales; las cuales pueden no ser tan favorables para la diseminación de los virus.

El estudio virológico tuvo como resultado el aislamiento de 6 cepas de Influenza del tipo A. Las 2 cepas seleccionadas con el objeto de tipificarlas completamente resultaron ser antigénicamente similares al virus A/England/42/72 (H3N2). Es interesante mencionar que estas 2 cepas fueron aisladas en porcinos menores de 4 meses, grupo donde también se encontraron los mayores porcentajes de sueros con anticuerpos para este virus. Si se pudo establecer que los porcinos de los cuales se hicieron los aislamientos tenían niveles bajos de anticuerpos en el momento de los aislamientos. Tres de los aislamientos fueron hechos a partir de porcinos sin síntomas clínicos de la enfermedad.

Esta observación es comparable a la realizada por Kundin en Taiwan cuando aisló por primera vez virus humanos de la cepa Hong Kong en porcinos aparentemente sanos de ese país (19).

Es de considerable importancia comentar que niveles altos de anticuerpos inhibidores de la hemaglutina-

ción en sueros de porcinos en período de lactancia, no son obstáculo para lograr la infección del animal. (46) Así mismo de cerdos lactantes con títulos altos de anticuerpos, a los cuales se les ha infectado con virus experimentalmente, éstos pueden recuperarse varias días después (47).

La susceptibilidad de los mamíferos y aves a la infección por los virus de Influenza ha entrado a jugar un papel preponderante en la explicación del surgimiento de nuevas epidemias por virus gripales de gran repercusión en la salud humana. Hasta hace muy pocos años la epidemiología de la Influenza y el comportamiento de los virus en la naturaleza habían sido fenómenos muy complejos.

Los hallazgos recientes de la infección natural de animales con algunas cepas de virus de Influenza humana (19, 4); el mayor conocimiento de los propios virus de Influenza animal (48) y el parentesco inmunológico que algunos de ellos tienen con los virus humanos (32), son hechos que han permitido explorar la posibilidad de que las grandes epidemias ocurridas tiempo atrás, hubiesen surgido por mutación de virus en poblaciones de animales inmunológicamente seleccionados, por adaptación y mutación de una determinada cepa o por recombinación de 2 virus que infecten un mismo animal.

En términos generales se admite que un virus de Influenza puede fluctuar antigénicamente cuando infecta una población que ha estado expuesta durante algunos años a ese virus. Esa fluctuación se produce como resultado de una presión creciente de la inmunidad de la población, que favorece la selección de mutantes preexistentes del virus. La inestabilidad genética que le proporciona al virus su genoma polisegmentado es naturalmente también un factor de ayuda. En un determinado momento de la infección de un huésped, se selecciona un virus mutante que puede evitar el alto grado de inmunidad que se ha establecido, eludiendo el riesgo de ser eliminado.

La infección superficial de las vías respiratorias, fenómeno característico en la patogénesis de la Influenza, favorece esa selección.

Es probable que allí, una cierta concentración de anticuerpos, presione a una multiplicación limitada de los virus, de donde sólo salga sobreviviente la población viral más aventajada, con nuevas características antigénicas en su hemaglutinina y neuraminidasa que le permitan propagarse en huéspedes indefensos.

El presente estudio refleja la infección de los porcinos por una variante surgida por fluctuación antigénica. Se observa en la naturaleza y en un huésped animal, el reemplazo de la circulación del virus humano A/Hong Kong/1/68 (H3N2) por la cepa A/England/42/72 (H3N2). La demora en evidenciar la presencia del virus gripal humano de Inglaterra es lógica. Así como sucedió con la cepa Hong Kong de 1968, que solamente pudo recuperarse de porcinos en 1970, cuando en la población humana quedaban relativamente pocos susceptibles y se adaptó entonces a un huésped que le permitiera sobrevivir. Del mismo modo dos años después de haberse iniciado la circulación del virus gripal humano de Inglaterra, en Coonor (India) en 1971, se observa su circulación en los cerdos.

La presión inmunológica de un gran número de humanos con anticuerpos para este virus después de la pandemia de 1968, llevó al surgimiento de la variante Inglaterra, 3 años después. Sólo hasta 1970 se aisló de porcinos una cepa similar al virus de Hong Kong y con anterioridad a ese año ningún investigador había podido detectar anticuerpos en sueros porcinos.

Es posible que después de la pandemia, el virus hubiese encontrado dificultades para ser mantenido a nivel endémico en los humanos. El número de humanos susceptibles disminuyó considerablemente; entonces la cepa se adaptó a los porcinos, una especie animal altamente susceptible.

Cabe preguntarse entonces: ¿Son los porcinos u otra especie animal, los huéspedes terminales de la cepa que fluctuó en sus antígenos superficiales, o sirven, acaso, de antesala para la producción del cambio antigénico que permita el surgimiento de nuevos subtipos virales con potencial pandémico para los humanos?.

La pregunta no ha podido ser respondida completamente y las respuestas aportadas atribuyen la causa principalmente a: una mutación directa de las cepas, a una adaptación directa de cepas de cuadrúpedos o de aves, al hombre; y últimamente a la recombinación o hibridización de cepas humanas con las de aves u otros animales.

La primera de estas respuestas se sostiene vigorosa todavía, aunque los geneticistas sostienen que es poco probable que la reorganización de las bases del código de ácido ribonucleico, responsables de los antígenos superficiales de hemaglutinina y neuraminidasa, cambien varias veces en forma repentina y en corto tiempo (7). Esta teoría parece tener también contradicciones de índole epidemiológico, pues es de es-

perar que si la mutación ocurre espontáneamente, se originasen entonces cepas con cambio antigénico, en varias partes del mundo, como se ha observado con el fenómeno de fluctuación antigénica, ya que la presión inmunológica que los anticuerpos de la población ejercen sobre el virus, se produce simultáneamente en diversos países.

La segunda respuesta tiene antecedentes epidemiológicos muy sólidos. La evidencia de epidemias humanas precedidas por brotes epidémicos en caballos (49:50); el brote porcino de 1918 que condujo al aislamiento de los virus de Influenza; y los recientes hallazgos en animales del virus Hong Kong de 1968, han despertado nuevamente el interés en esta teoría (51; 19; 4).

A pesar de que se tiene la prueba de que los virus humanos de Influenza pueden multiplicarse en cerdos sin ocasionar síntomas clínicos aparentes (47); y que pueden cultivarse y transferirse de 2), no existen pruebas de transmisión inversa de estas especies al hombre. Lo más probable es que las infecciones en los animales por adaptación de cepas virales provenientes de otras especies, sean de utilidad para facilitar la explicación de la teoría de recombinación genética.

Se ha demostrado que las mutaciones antigénicas de las dos proteínas superficiales de los virus de Influenza ocurren independientemente (52). También se ha probado que esos dos polipéptidos son codificados por diferentes genes (11). Lo que no ha podido explicar la teoría mutacional ha sido la aparición de cambios antigénicos en los virus A de Influenza de 1947 (H1N1), 1957 (H2N2) y 1968 (H3N3), asociados con pandemias humanas, ya que esta teoría sólo explica las fluctuaciones antigénicas.

Era de esperarse que si el virus gripal Hong Kong de 1968, hubiese surgido por mutación directa de la cepa Asiática de 1957, el análisis de las hemaglutininas en su contenido y secuencia de polipéptidos, no hubiese resultado tan diferente (53).

También se han analizado los péptidos de la hemaglutinina y la neuraminidasa de virus procedentes de especies distintas y se ha demostrado por ejemplo que la neuraminidasa del virus humano A/Singapore/57 (H2N2) es indistinguible de la neuraminidasa de la cepa aviar A/Turkey/Massachusetts/65 (Hav 6 Nav 2). Así mismo la hemaglutinina de la cepa Hong Kong es similar a la de una cepa equina y a la de una cepa de pato, aislada por primera vez en Ucrania antes de 1957. (54; 48).

Los hallazgos anteriores han consolidado la teoría de la recombinación genética; han permitido extender la hipótesis de que la recombinación entre virus humanos y animales ha dado origen a nuevas cepas de influenza; y han permitido pensar que gran parte de los virus animales existentes infectaron al hombre en el pasado. No obstante de que hasta el presente no se puede afirmar cual de las teorías tienen la verdad, si es importante tener la esperanza razonable de que se está próximo a ella.

Como conclusiones fundamentales de este estudio se tienen: La demostración de evidencia de infección de los cerdos suramericanos con los virus de Influenza porcina "clásica"; la contribución al conocimiento de la historia natural de la Influenza humana por el hallazgo de que también en América los porcinos pueden ser huéspedes de virus humanos de Influenza, con las implicaciones que se mencionaron en el curso de la discusión y el estímulo para desarrollar investigaciones más profundas, bien sean naturales o experimentales, que pueden conducir a una situación en que la aparición de virus de Influenza epidemiológicamente importantes, pueda ser prevista.

RESUMEN

Considerando que la Influenza se ha detectado en animales de algunos países y que su historia natural no es completamente clara, se realizó en el departamento de Antioquia, Colombia, un estudio serológico y virológico con el ánimo de establecer si la infección ha existido en esta área geográfica.

El estudio se realizó en 4 áreas ecológicas de ese departamento y en el Matadero Municipal de su capital. Se analizaron para 4 virus de Influenza, sueros de porcinos de diferentes sitios de las áreas seleccionadas y se intentó el aislamiento de virus a partir de 110 porcinos con o sin sospecha clínica de la enfermedad.

Los resultados presentan la primera evidencia serológica de infección con 2 virus de Influenza porcina clásica en cerdos colombianos. Simultáneamente se demuestra que algunos virus de Influenza humana han circulado en los porcinos de esta área de Sur América. El aislamiento y subtipificación de las cepas aisladas muestran la presencia en porcinos de un virus antígenicamente similar al virus humano A/England/42/72 (H3N2).

Finalmente se discute sobre el surgimiento de nuevos subtipos virales de Influenza con potencial pandémico

para los humanos y se comenta la importancia de este tema en el esclarecimiento de la epidemiología de la Influenza.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mis sinceros agradecimientos a los Doctores Omar Hincapié y José H. López T. por la orientación científica y ayuda personal sin la cual no se hubiera podido realizar este trabajo.

A los Doctores Walter R. Dowdle, Marion Coleman*, Don Palmer y Geoffrey Schild, de los Centros Internacionales de Influenza de Atlanta E.U.A. y Londres, Inglaterra: por sus valiosas enseñanzas a nivel personal; y sus permanentes consejos, críticas y sugerencias por correspondencia. Así como por el suministro de la mayoría de antígenos y antisueros de referencia.

A los Doctores Bernard C. Easterday y Thomas M. Yuill del Departamento de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Wisconsin, E.U.A., por su ayuda desinteresada y por el suministro de los antígenos de los virus de Influenza porcina.

A los doctores Eutimio Restrepo y Gabriel Jaime Noreña, de la Secretaría de Agricultura de Antioquia y de la Escuela Nacional de Salud Pública por su colaboración en el trabajo de campo.

Al Doctor Fabio Nelson Zuluaga, de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad de Antioquia por permitirme el uso del Banco de sueros del laboratorio de Virología.

Al Doctor William Mejía, de la Escuela Nacional de Salud Pública por su ayuda en el análisis estadístico.

Al Departamento de Microbiología y Parasitología de la Universidad de Antioquia por concederme el tiempo para realizar mis estudios.

A todo el personal del laboratorio de Virología, del departamento de Microbiología y Parasitología, por su ayuda y consejo técnico.

Al personal del Centro de Diagnóstico del Instituto Colombiano Agropecuario I.C.A., de Medellín por su ayuda técnica y por el uso de equipo del laboratorio.

*Fallecida en 1975.

BIBLIOGRAFIA

1. MELNICK, J.L. Classification and Nomenclature of Animal Viruses Progress in Med. Virol. Separata, 1971.
2. KNIGHT, V. and KASEL, J.A. Influenza Viruses. In: Viral and Mycoplasmal Infections of the Respiratory Tract. Philadelphia, Lea and Febiger, 1973 87-123.
3. BRUMER, D.W. and GUILLESPIE, J.H. Hagan's infectious Diseases of Domestic Animals. Ithaca, Cornell University, 1973.
4. SEREDA, V.N. Aetiology of Influenza of Domestic Animals. Act Virol. 18: 222-228, 1974.
5. KILBOURNE, E.D. et al. Immunologic methodology in Influenza Diagnosis and research summary of Influenza. Workshop II. J. Infect. Dis. 125: 219-223, 1972.
6. HIRST, G.K. The Agglutination of red cells by Allantoic fluid of Chick embryos infected with Influenza Virus. Science. 94: 22-24, 1941.
7. KILBOURNE, E.D. et al. Immunologic methodology in Influenza Diagnosis and research summary of Influenza. Workshop II. Influenza virus polypeptides and antigens. J. Infect. Dis. 125: 219-447, 1972.
8. COMPANS, R.W. et al. Influenza virus proteins. I. Analysis of Polypeptides of the virion and identification of spike glycoproteins. Virology. 42: 880-890, 1970.
9. DOWDLE, W.R. Influenza anti-neuraminidase: The second best antibody. New Eng. J. Med. 286:1360-1364, 1972.
10. ————DOWNIE, J.C. and LAVER, W.G. Inhibition of virus release by antibodies to surface antigena of Influenza. Viruses. J. Virol. 13: 269-275, 1974.
11. LAVER, W.G. and KILBOURNE, E.D. Identification in a recombinant Influenza virus of structural proteins derived from both parents. Virology. 30:493-501, 1966.
12. COCKBURN, W.C. Influenza in man and animals. W.H.O. Chronicle. 27:185-191, 1973.
13. W.H.O. Expert Committee on Influenza Viruses. A revised system of Nomenclature for Influenza Viruses. Bull. Wild. Hlth Org. 45: 119-124, 1971.
14. SMITH, W., ANDREWES, C.H. and LAIDLAW, P.O. A virus obtained from Influenza patients. Lancet. 2: 66-68, 1933.
15. HIRCH, A. Handbook of Geographical and Historical Pathology Vol. I. Acute Infective Diseases. Translated from second German edition by Charles Greigton, M.D. London, The New Sydenham Society, 1886.
16. RICKESTSON, S. A brief history of Influenza which prevailed in New York in 1807. The Mading Collection. Texas. Medical Center Library, 1807.
17. SHOPE, R.E. Swine Influenza III. Filtration experiments and etiology. J. Exp. Med. 54: 373-378, 1931.
18. ROVMARY, P. Personal communication to Dr. M. Kaplan, In W.H.O. coordinated research on the role of animals in Influenza epidemiology Bull. Wild. Hlth. Org. 47: 439-443, 1972.
19. KUNDIN, W.A. Hong Kong A Influenza virus infection among swine during a human epidemic in Taiwan. Nature 228: 857, 1970.
20. HARKANESS, J.W. et al. Studies on relationships between human and porcine Influenza. I. Serologic evidence of infection in great Britain with and Influenza A virus like human Hong Kong/66 virus. Bull. Wild. Hlth. Org. 46: 709-719, 1972.
21. KUNDIN, W.D. and EASTERDAY, B.C. Hong Kong Influenza Infection in swine experimental and field observation. Bull. Wild. Hlth. Org. 47: 489-493, 1972.
22. BEARE, A.S., SCHILD G.C. and HALL, T.S. Experimental infection of human volunteers with Influenza virus antigenically related to the human A/Hong Kong/66. Bull. Wild. Hlth. Org. 47: 493-497, 1972.
23. NAKAMURA, R.M. et al. Swine Influenza: epizootiological and serological studies. Bull. Wild. Hlth. Org. 47: 481-489, 1972.
24. SOMINOVA, O. et al. Isolation of a virus Causing respiratory disease in horses. Act. Virol. 2: 52-61, 1958.
25. WADDELL, G.H., TEIGLAND, M.B. and SIEGEL, M.M. A new Influenza virus associated with equine respiratory disease. J. Amer. Vet. Med. Assoc. 143: 587-590, 1963.
26. PEREIRA, H.G. et al. Antigenic variation (Hew2Neq2) Influenza virus. Bull. Wild. Hlth. Org. 47: 465-469, 1972.
27. WINKLER, W.G. Influenza in Animals: Its Possible Public Health Significance. J. Wildlife. Dis. 6: 239-242, 1970.
28. SLEPUSVKIN, A.N. et al. Hemagglutination-inhibiting activity to type A Influenza viruses in the sera of wild birds from the far east of the USSR. Bull. Wild. Hlth. Org. 47: 527-530, 1972.

29. SLEPUSVKIN, A.N. and WEBSTER, R.G. Antibodies to human Influenza virus neuraminidase (the A/Asian/57 H3N2 strain) in sera from Australian pelagic birds. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 47: 535-541, 1972.
30. NIKITIN, T.D. et al. Epidemiological studies of A/Hong Kong/68 virus infection in dogs. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 47: 471-479, 1972.
31. PANIKER, C.K.J. and NAIR, C.M.G. Experimental infection to animals with Influenza virus types A and B. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 47: 461-463, 1972.
32. TUMOVA, B. and SCHILD, G.C. Antigenic relationships between type A Influenza virus of human, porcine, equine, and avian origin. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 47: 453-461, 1972.
33. HOLDRIGE, L.R. Determination of the World Plant Formations from Climate Data. *Science* 105: 367-368, 1974.
34. INSTITUTO AGUSTIN CODAZZI, OFICINA DE ESTUDIOS GEOGRAFICOS. 1969. Monografía del Departamento de Antioquia, Bogotá, Colombia, 1959. 98p.
35. W.H.O. Expert Committee on Respiratory virus diseases. *Bull. Wld. Hlth. Org. Tech. Rep. ser. No.* 170, 1959.
36. TAKATSY, G. The use of spiral loops in serological and Virological micromethods. *Acta Microbiol. Acad. Scie. Hung.* 3: 191-203, 1955.
37. LIEF, F.S. and HENLE, W. Studies on the soluble antigen of Influenza virus the release of S antigen from elementary bodies by treatment with ether. *Virology* 2: 753-771, 1956.
38. SCHILD, G.C. and PEREIRA, H.G. Characterization of the ribonucleoprotein and neuraminidase of Influenza A viruses by Immunodiffusion. *J. Gen. Virol.* 4: 335-363, 1969.
39. DOWDLE, W.R. A simple double immunodiffusion test for typing Influenza viruses. *Bull. Wld. Hlth. Org.* In Press, 1974.
40. OUCHTERLONY, O. Diffusion in Gel Methods for Immunological Analysis. *Progress in Allergy.* 5: 1-78, 1958.
41. AYMARD-HENRY, M. et al. Influenza virus neuraminidase inhibition test-procedures. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 48: 199-202, 1973.
42. HAM, R. and PUCK, S. Isolations of Enzymes. *Methods in Enzymology* 5: 90-95, 1962.
43. GRIST, N.R. KERR, J. and ISAACS, B. Rapid Serological Diagnosis of an outbreak of Influenza. *Brit. Med. J.* 2: 5249-5252, 1961.
44. HANSEN, H. et al. Evidencia serológica para 4 virus de Influenza en 3 grupos de población. Antioquia, Colombia, 1974. En preparación. 1975.
45. DOWDLE, W.R. Comunicación personal, 1975.
46. EASTERDAY, B.C. Influenza virus Infection in the suckling Pig. *Acta. Vet. Brno. Suppl.* 2: 33-42, 1971.
47. ————. Immunological Considerations in Swine Influenza. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.* 160: 645-648, 1972.
48. ———— and TUMOVA, B. Avian Influenza. Viruses: In Avian species and the Natural History of Influenza. *Adv. Vet. Science. Comp. Med.* 16: 201-222, 1972.
49. SHORT, T. A general chronological history of the air, weather seasons, meteors, and etc. cited by Thompson 1852. *Annual of Influenza Epidemic Catarrhal Fever in Great Britain from 1510 to 1837.* London, Sydenham Society, 1749.
50. VERSTEEG, J., MOUTON, R.P. and VERLINE, J. D. Asian Influenza in horses. *T. Diergeneesk.* 33: 608-613, 1953.
51. WINKLER, W.G. Influenza in Animals: Its Possible Public Health Significance. *J. Wildlife. Dis.* 6: 239-242, 1970.
52. SCHULMAN, J.L. and KILBOURNE, E. D. Independent variation in nature of the hemagglutinin and neuraminidase antigens of Influenza virus: distinctiveness of the hemagglutinin antigen of Hong Kong/68 virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 63: 326-333, 1969.
53. ———— and WEBSTER, R.G. Studies on the origin of pandemic Influenza II Peptide maps of the light and heavy polypeptide chains from the hemagglutinin subunits of A2 Influenza viruses, isolated before and after the appearance of Hong Kong Influenza. *Virology.* 44: 317-328, 1971.
54. ———— and WEBSTER, R.G. Selection of Influenza viruses isolation peptide mapping of their hemagglutinating proteins. *Virology.* 34: 193-202, 1968.