

INVESTIGACIONES SOBRE EL VIRUS DE INFLUENZA

En varias ocasiones la Organización Mundial de la Salud ha recomendado intensificar los estudios sobre enfermedades víricas—entre ellas la influenza—y elaborar un programa destinado a dar solución a los problemas que causan en función de la salud pública y la salud animal. Como respuesta a estos lineamientos el Instituto Bacteriológico de Chile ha realizado estudios sobre brotes de influenza equina y porcina, ha dado gran importancia a la vigilancia serológica así como a las encuestas epizootiológicas de la enfermedad. A continuación el Boletín de la OPS publica dos de los trabajos de investigación que llevó a cabo el mencionado Instituto.

ESTUDIOS SEROLOGICOS DE INFLUENZA EN PORCINOS DE CHILE

Dres. Manuela Vicente,¹ Angel Soler,² María Pilar Pérez Breña³ y Rafael Nájera⁴

Estudios realizados en sueros de cerdos procedentes de diversas regiones de Chile indicaron que es posible la infección de estos animales con cepas de influenza humana. Sin embargo, no se detectaron anticuerpos frente a virus de influenza porcina.

Introducción

Existen pruebas de que algunos virus de influenza humana pueden transmitirse a los cerdos. En 1970, Kundin demostró la presencia de virus antigénicamente similares al virus A/Hong Kong/8/68(H3N2), en cerdos que no presentaban síntomas de la enfermedad (1). También Hanssen (2) en 1974, aisló cepas análogas al virus de influenza humana A/England/42/72(H3N2) de cerdos con síntomas de enfermedad respiratoria.

Asimismo, se ha demostrado la existencia de anticuerpos séricos frente a las cepas relacionadas con el subtipo H3N2 en cerdos de distintos países, lo cual indica su amplia distribución en estos animales (3-9).

El objetivo del presente estudio fue obtener información para evaluar la situación de la influenza porcina en Chile en los últimos años. Con este propósito se realizaron las siguientes reacciones serológicas: inhibición de la hemaglutinación (IH), inhibición de la neuraminidasa (IN), inmunoprecipitación (IP) y fijación de complemento (FC) para determinar la presencia de anticuerpos en sueros de cerdos, de diferentes regiones de Chile, frente a cepas de influenza de origen humano y porcino.

Material y métodos

Virus

Las cepas de virus de influenza humana A/Chile/7 1(H3N2) (tipo A/Hong

¹ Químico Farmacéutico, Jefe, Sección Virus Respiratorios, Departamento de Virología, Instituto Bacteriológico de Chile, Santiago, Chile.

² Médico Veterinario, Fábrica de Cecinas, Curicó, Chile.

³ Farmacéutico, Sección Virus Respiratorios, Centro Nacional de Microbiología, Virología y Ecología Sanitarias, Majadahonda, Madrid, España.

⁴ Médico, Jefe, Sección Virus Respiratorios, Centro Nacional de Virología y Ecología Sanitarias, Majadahonda, Madrid, España.

Kong/8/68); A/Chile/72(H3N2) (tipo A/England/42/72); A/Chile/74(H3N2) (tipo A/Port Chalmers/1/73), y A/Chile/75(H3N2) (tipo A/Victoria/3/75), que se utilizaron pertenecían a la colección de nuestro laboratorio. La cepa porcina A/porcino/Wisconsin/77(Hsw1N1) fue obtenida de la colección del Centro para el Control de Enfermedades de Atlanta, Georgia.

Los virus se emplearon como antígenos hemaglutinantes y fijadores de complemento en forma de líquidos alantoideos de huevos embrionarios infectados, diluidos en glicerina estéril al 50%.

El antígeno hemaglutinante del virus de influenza A/New Jersey/76(Hsw1N1) fue proporcionado por el Centro para el Control de Enfermedades.

Sueros de cerdos

Grupo 1. Los sueros de este grupo se obtuvieron de animales hembras, aparentemente sanos, de 8 meses a 4 años de edad, en un criadero de Curicó, situado en la región central de Chile, donde los animales se habían criado desde su nacimiento. En noviembre-diciembre de 1974 se obtuvieron 224 sueros y en enero de 1977, 40 sueros.

Grupo 2. Este grupo estuvo constituido por 127 sueros obtenidos de animales de ambos sexos, aparentemente sanos, de 3 meses a 4 años de edad, de diciembre de 1976 a mayo de 1977.

Prueba de inhibición de la hemaglutinación (IH)

Esta reacción se realizó utilizando la microtécnica de Takatsy, modificada por Sever (10). Se usaron hematíes de sangre de gallina suspendidos al 0.5% en solución amortiguadora de fosfatos (pH 7) y con cuatro unidades hemaglutinantes de antígenos (UHA) en 0.025 ml de dilución. Los sueros se trataron con enzima destructora de los receptores (EDR) (11), y cuando fue necesario eliminar hemaglutininas no es-

pecíficas, se agregó a la dilución de cada suero en proporción de 1:10 una suspensión al 50% de eritrocitos de gallina. Los sueros se dejaron reposar una hora a temperatura ambiente y se procedió después a la centrifugación.

Los antisueros de referencia se prepararon en gallos utilizando las cepas descritas.

Prueba de inhibición de la neuraminidasa (IN)

Se utilizó la técnica de Laver (12) usando fetuina como sustrato y un período de incubación de 18 horas a 37°C. Los títulos se expresaron como la dilución del suero que inhibe el 50% de la actividad enzimática (13). Como fuente de neuraminidasa (N2) se usó la cepa de virus de influenza A/Chile/74 en las reacciones con los sueros de 1974 y el recombinante del virus de influenza X-31 en los sueros de 1977 (14).

Prueba de inmunoprecipitación (IP)

Se utilizó el método de inmunodoble difusión (15). Como antígenos se utilizaron los virus de influenza A/Hong Kong/8/68(H3N2), A/England/42/72(HEN2) y A/Port Chalmers/1/73(H3N2) en forma de líquidos alantoideos concentrados y purificados (16).

Prueba de fijación de complemento (FC)

Se utilizó la microtécnica antes mencionada para la prueba de inhibición de la hemaglutinación con 2 UH 100 de complemento y solución salina Kölmer como diluyente (17).

Resultados

Grupo 1. Los resultados de la prueba de inhibición de la hemaglutinación para los 224 sueros de cerdo obtenidos en 1974, frente a las cepas de influenza humana A/Chile/71, A/Chile/72 y A/Chile/74, se expresan en el cuadro 1. Se observó una diferencia significativa ($P < 0.001$) entre los grupos de edad estudiados, frente a los

CUADRO 1—Porcentajes de sueros positivos y media geométrica de los títulos de inhibición de la hemaglutinación en sueros de cerdo, Curicó, Chile, 1974.

Antígeno	Edad							
	8 a 14 meses (112 sueros)				15 a 36 meses (112 sueros)			
	Positivos ^a		Media geométrica ^b	Positivos ^a		Media geométrica ^b	Diferencia de %	χ^2 ^c
	No.	%		No.	%			
A/Chile/71(H3N2)	41	36.5	12	104	93	96	-56.5	77.6
A/Chile/72(H3N2)	60	53.5	20	104	93	76	-37.5	44.1
A/Chile/74(H3N2)	70	62.5	24	104	93	49	-30.5	29.8

^a Se denominan positivos aquellos sueros con un título $\geq 1/20$ frente a 4 UHA de antígeno.

^b La media geométrica se expresa por el valor recíproco de los títulos. Los sueros con valores inferiores a 10 se utilizaron para el cálculo como iguales a 5.

^c $\chi^2=10.8$; $P<0.001$.

tres antígenos. Los porcentajes más altos de positividad (93%) se encontraron en el grupo de mayor edad y fueron iguales para los tres antígenos estudiados. La media geométrica más alta ($Mg=96$) se obtuvo, sin embargo, con el virus A/Chile/71 y disminuyó en los restantes virus estudiados. Por el contrario, en el grupo de menor edad, los porcentajes de positividad de los títulos y la media geométrica aumentaron progresivamente desde la cepa A/

Chile/71 al antígeno A/Chile/74. Sin embargo, en todos los casos la positividad es significativamente menor en el grupo de menor edad.

En todos los sueros que, para cualquiera de las cepas analizadas, poseían un título igual o superior a 1/160 en la inhibición de la hemaglutinación se realizaron reacciones de inhibición de la neuraminidasa con el antígeno A/Chile/74 como fuente de neuraminidasa (N2). En el cuadro 2 se

CUADRO 2—Inhibición de la neuraminidasa en sueros de cerdo, antígeno A/Chile/74(H3N2), Curicó, Chile, 1974.

Edad (en meses)	No. de sueros	Títulos ^a							
		20		20-40		80-160		≥ 320	
		No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
8 a 14	15	1	6.6	-	-	9	60	5	33
15 a 36	27	-	-	-	-	8	30	19	70
Total	42	1	2.4	-	-	17	40	24	57

^a Los títulos se expresan por sus valores recíprocos.

CUADRO 3—Porcentajes de sueros positivos y media geométrica de los títulos de inhibición de la hemaglutinación en sueros de cerdo. Curicó, Chile, 1977.

Antígeno	Edad							
	8 a 14 meses (19 sueros)			15 a 36 meses (21 sueros)			Diferencia de %	χ^2 ^c
	Positivos ^a		Media geométrica ^b	Positivos ^a		Media geométrica ^b		
No.	%	No.		%				
A/Chile/71(H3N2)	4	21	8.6	19	90	37.5	-69	16.9
A/Chile/72(H3N2)	4	21	7.5	21	100	45.7	-79	30.0
A/Chile/74(H3N2)	4	21	7.5	19	90	38.7	-69	16.9
A/Chile/75(H3N2)	6	32	8.6	19	90	40.0	-58	17.4

^a Se denominan positivos aquellos sueros con un valor $\geq 1/20$ frente a 4 UHA de antígeno.

^b La media geométrica se expresa por el valor recíproco de los títulos. Los sueros con valores inferiores a 10 se utilizaron para el cálculo como iguales a 5.

^c $\chi^2 = 10.8$; $P < 0.001$.

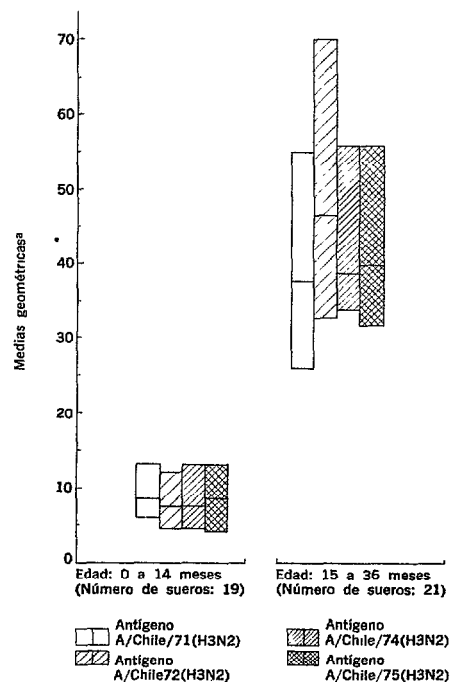
muestra que únicamente un suero fue negativo ($< 1/20$) y que más del 50% del total tenían valores superiores a $1/320$.

En el cuadro 3 se presentan los resultados de la inhibición de la hemaglutinación obtenidos en los sueros porcinos de 1977. Además de los antígenos ya nombrados se agregó la cepa A/Chile/75. Los porcentajes de positividad fueron significativamente más altos en el grupo de mayor edad para los cuatro antígenos analizados ($P < 0.001$).

Al comparar estos dos grupos de edad con los sueros de edades semejantes obtenidos en 1974 (cuadro 1), se observó un descenso en todas las medias geométricas frente a los virus de 1971-1974.

En la figura 1 se comparan las medias geométricas de ambos grupos de edad frente a los diferentes antígenos por el método de Takisawa (18). Los sueros de los animales jóvenes tuvieron bajos títulos de inhibición de la hemaglutinación que fueron prácticamente semejantes para los cuatro virus estudiados, superponiéndose los límites inferiores y superiores de las medias geométricas. Este fenómeno se repitió en el grupo de mayor edad con valores más altos pero, en este caso, difirieron significativamente del grupo juvenil.

FIGURA 1—Medias geométricas^a y límites de confianza de los títulos de inhibición de la hemaglutinación en sueros de cerdo. Curicó, Chile, 1977.



^a La media geométrica (MG) se calculó considerando los valores recíprocos de los títulos y los valores menores de 10 como iguales a 5.

Los sueros con títulos \geq de 1/80 en la inhibición de la hemaglutinación frente a cualquiera de los virus analizados, se examinaron en reacciones de inhibición de la neuraminidasa. Se estudiaron ocho sueros que pertenecían al grupo de más edad, encontrándose valores positivos en todos aquellos con títulos entre 1/20 y 1/100.

Todos los sueros de 1974 y 1977 que, para cualquiera de las cepas estudiadas presentaron valores de inhibición de la hemaglutinación iguales o superiores a 1/80, se sometieron a reacciones de inmunoprecipitación frente a los antígenos A/Hong Kong/68, A/England/72 y A/Port Chalmers/73, con resultados negativos. También se obtuvieron resultados negativos con dichos sueros en la fijación de complemento frente al virus de influenza A.

Todos los sueros de 1974 y 1977 se examinaron en la prueba de inhibición de la hemaglutinación frente a los virus A/porcino/Wisconsin/67 y A/New Jersey/76 con resultados negativos en todos los casos en dilución de 1:10.

Grupo 2. Los 127 sueros de este grupo se estudiaron solamente en reacciones de inhibición de la hemaglutinación. Los resultados obtenidos se presentan en el cuadro 4 para el antígeno A/Chile/75. Puede observarse una diferencia entre ambos gru-

pos de edad ($P < 0.05$), pero los valores de las medias geométricas fueron muy bajos: 6.1 y 7.6, respectivamente.

Todos los sueros se examinaron en reacciones de inhibición de la hemaglutinación frente a los virus A/porcino/Wisconsin/67 y A/New Jersey/76 con resultados negativos en todos los casos en dilución de 1:10, a excepción de dos sueros procedentes de dos hembras de la misma localidad del sur de Chile, en los que se obtuvieron valores de 1/10 y 1/80, respectivamente, frente al antígeno A/New Jersey/76.

Se realizó una prueba de χ^2 para comparar los valores obtenidos entre los sueros de cerdos de Curicó de 1977 y los del resto del país, frente al antígeno A/Chile/75 en inhibición de la hemaglutinación. Se encontró una diferencia significativa ($\chi^2=6.3$, $P < 0.05$) entre los animales jóvenes. También fueron significativamente diferentes ($\chi^2=18.56$; $P < 0.001$) los resultados obtenidos para los animales mayores de 15 meses de edad en los cuales los valores más altos se encontraron en las muestras obtenidas en Curicó.

Discusión

En Chile el subtipo de virus de influenza humana A/Hong Kong/68 apareció en el

CUADRO 4—Porcentaje de sueros positivos y media geométrica de los títulos de inhibición de la hemaglutinación en sueros de cerdo de diferentes regiones. Antígeno: A/Chile/75(H3N2). Chile, 1976-1977.

Edad (en meses)	No. de sueros	Positivos ^a		Diferencia de %	Media geométrica	χ^2
		No.	%			
3 a 14	99	10	10	- 15	6.1	4.2
15 a 36	28	7	25		7.6	

^a Se denominan positivos aquellos sueros con un título 1/20 frente a 4 UHA de antígeno.

^b La media geométrica se expresa por el valor recíproco de los títulos. Los sueros con valores inferiores a 10 se utilizaron para el cálculo como iguales a 5.

^c $\chi^2=3.84$; $P < 0.05$.

invierno de 1969 y, posteriormente, se han registrado sucesivos brotes epidémicos de diferente intensidad, causados por las cepas relacionada antigénicamente con dicho prototipo tales como A/England/72, A/Port Chalmers/73 y A/Victoria/75 (19, 20).

Por esta razón se consideró interesante confrontar las reacciones de la inhibición de la hemaglutinación de dichos virus aislados de casos humanos en Chile, con las de sueros de cerdos de diferentes regiones del país.

Al examinar los resultados de los sueros obtenidos en Curicó en 1974 (cuadro 1), llama la atención el alto porcentaje de positividad, considerando esta, como se ha hecho en trabajos recientes, como el número total de sueros positivos con títulos de 1/20 sobre el total de sueros a 35% en los animales más jóvenes y llega hasta el 93% en los de más edad. Esto indicaría una infección masiva por cepas humanas en el criadero estudiado, ya que los animales habían nacido y crecido en el mismo lugar.

El estudio estadístico de los datos de la inhibición de la hemaglutinación sugiere que en el grupo de más edad, el causante principal de la infección fue un virus más relacionado con A/Chile/71 (tipo A/Hong Kong/68) que con las cepas posteriores. La media geométrica frente a A/Chile/71 fue la más alta y descendió notoriamente para los otros antígenos (cuadro 1). Este hecho se debe fundamentalmente a que esos antígenos detectarían el cruce antigénico con la cepa anterior. En los animales de 8 a 14 meses de edad se observó el fenómeno inverso. En este caso la media geométrica y la positividad aumentaron frente a las cepas de 1972 y 1974, lo que sugiere que la infección fue producida por alguna de ellas y el cruce antigénico hacia el virus previo A/Chile/71. Este hecho es lógico si se toma en cuenta que los animales jóvenes habían nacido después de que las cepas A/Chile/71 habían dejado de circular en la población humana en Chile.

En los estudios realizados no se utilizaron cepas especialmente resistentes a los inhibidores y tal vez por esta razón, aumentaron, en cierto modo, los porcentajes de positividad. Sin embargo, en los sueros en que se realizaron reacciones de inhibición de la neuraminidasa (cuadro 2), se observó que el 97.6% del total estudiado tenía títulos \geq de 1/80, lo que confirmaría los resultados de la prueba de inhibición de la hemaglutinación.

En 1977 se estudió otra muestra de sueros del mismo origen (cuadro 3) y también se encontró una diferencia significativa en ambos grupos de edad, pero no se halló una diferencia estadísticamente significativa entre las distintas cepas dentro del mismo grupo de edad. En la figura 1 el valor de la media geométrica fue más alto en el grupo de 15 a 36 meses para el virus A/Chile/72 (tipo A/England/72), lo que parece indicar que la infección fue causada por esa cepa y que las restantes reacciones se debieron al cruce antigénico. En todo caso no hay datos que apoyen que las cepas más recientes del virus A/Chile/75 fueran las causantes de infección en forma especial.

Las reacciones de inhibición de la neuraminidasa en ese grupo de edad presentaron valores inferiores a los obtenidos en 1974. Esto podría deberse a que las infecciones no eran muy recientes, o bien a la utilización del recombinante de influenza x-31, en vez de la cepa A/Chile/72 usada en los sueros de 1974.

Al comparar la muestra de 1977 con la de 1974 (cuadros 1 y 3), se observó un gran descenso en la positividad, por lo que se pudo concluir que la infección fue más intensa en 1974 y siempre afectó en mayor escala a los grupos de más edad.

Al analizar los resultados obtenidos en la inhibición de la hemaglutinación frente a la cepa A/Chile/75, procedentes de diferentes regiones del país (cuadro 4), y compararlos con los datos obtenidos para los sueros de 1977 de Curicó (cuadro 3), se

observó que ambos grupos de edad se infectaron en mayor proporción en Curicó, en forma estadísticamente significativa. Este hecho podría deberse a que los animales de las otras regiones pertenecían, en general, a pequeños propietarios y a áreas rurales donde el contacto con la población humana era menor. Los bajos títulos (solo se obtuvo un suero con valor de 1/160) indicarían, igual que en Curicó, que la infección se debió a una cepa relacionada con A/Chile/75 de aparición anterior.

La mayoría de los sueros positivos se encontraron en el grupo de 15 a 36 meses de edad y en la zona sur del país, donde había mayor concentración de estos animales.

La negatividad de las reacciones de inmunoprecipitación y fijación de complemento en todos los sueros positivos en la inhibición de la hemaglutinación estudiados no es fácil de analizar, pero en trabajos anteriores se han comunicado resultados semejantes (7, 21). Tal vez sea necesario que los sueros de cerdo tengan títulos más altos en la inhibición de la hemaglutinación, que los determinados en este estudio para que se obtengan líneas de precipitación.

Conclusiones

Como conclusiones del estudio realizado se puede afirmar que los virus de influenza humana relacionados con los subtipos H3N2 causaron la infección con distinta intensidad según el origen de los animales, en porcinos de Chile.

Por otro lado, no parece existir infección en la población porcina por el virus de influenza A/porcino/Wisconsin/67. Los dos sueros que únicamente reaccionaron en la prueba de inhibición de la hemaglutinación con la cepa A/New Jersey/76 podrían ser inespecíficos.

Estos resultados señalan la importancia de continuar la vigilancia serológica y, en lo posible el aislamiento de la influenza en

los cerdos del país, así como la regulación de la entrada de animales importados infectados por virus de influenza porcina que podrían dar origen a epizootias entre ellos.

Resumen

Se analizaron sueros de cerdo procedentes de distintas regiones de Chile frente a virus de influenza humana y porcina.

En sueros obtenidos en Curicó en 1974, se observaron porcentajes de positividad que variaron de 36.5 a 62.5% en cerdos de 8 a 14 meses de edad en 112 muestras estudiadas. El porcentaje de positividad en la prueba de inhibición de la hemaglutinación frente a cepas de influenza humana perteneciente al subtipo H3N2, fue 93% en las 112 muestras estudiadas de sueros de animales mayores de 15 meses de edad.

Posteriormente, en 1977, se obtuvo una segunda muestra en la que los porcentajes descendieron a 21 y 32% en 19 sueros analizados de animales de 8 a 14 meses de edad, y se mantuvieron entre 90 y 100% en 21 sueros de animales de más edad. En ambos casos se observó un descenso en las medias geométricas de los títulos obtenidos con respecto a 1974.

En 127 sueros de porcinos de otras regiones, estudiados de 1976 a 1977, los porcentajes de positividad de la inhibición de la hemaglutinación frente a la cepa A/Chile/75(H3N2) y las medias geométricas fueron más bajas que los que se obtuvieron en Curicó en la misma fecha.

Las reacciones de inhibición de la hemaglutinación se confirmaron en los sueros positivos con títulos de 1/160, en reacciones de inhibición de la neuraminidasa. Sin embargo en las reacciones de inmunoprecipitación y en la fijación de complemento se obtuvieron resultados negativos.

Nuestro trabajo indica la infección de cerdos en Chile por cepas de influenza humana relacionadas con el subtipo

H3N2; sin embargo no se detectaron anticuerpos frente al virus A/porcino/Wisconsin/67.

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento a la srta. A. Cárcamo, auxiliar técnica de la Sección

Virus Respiratorios y al Dr. L. Rodríguez, Jefe del Laboratorio de Control del Departamento de Vacunas y Antitoxinas Bacterianas, del Instituto Bacteriológico de Chile, por su cooperación técnica y estadística, respectivamente. Asimismo se agradece al personal profesional y técnico del Servicio Agrícola y Ganadero, Ministerio de Agricultura y a la Sección de Epidemiología, Ministerio de Salud, que cooperaron en la obtención de las muestras.

REFERENCIAS

- (1) Kundin, W. D. Hong Kong A2 influenza virus infection among swine during a human epidemic in Taiwan. *Nature* 228(28):857, 1970.
- (2) Hanssen, H. Influenza en porcinos de Antioquia y su repercusión en la salud humana. II. Estudios virológicos. En: *Resúmenes del VII Congreso Latinoamericano de Microbiología*, Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1977. Pág. 262.
- (3) Styk, B. *et al.* Antibody against Hong Kong influenza viruses in pigs. *Acta Virol* 15:211, 1971.
- (4) Harkness, J. W. *et al.* Studies on the relationship between human and porcine influenza. Serological evidence of infection in swine in Great Britain with an influenza A virus antigenically like human Hong Kong/68 virus. *Bull WHO* 46:709, 1972.
- (5) Kundin, W. D. y B. C. Easterday. Hong Kong influenza infection in swine: Experimental and field observations. *Bull WHO* 47:489-491, 1972.
- (6) Popovici, V. Infection of pigs with an influenza virus related to the A2/Hong Kong/68 strain. *Acta Virol* 16:363, 1972.
- (7) Vicente, M. *et al.* Antibodies against human types A and B influenza viruses in the sera of animals in Spain. *Bull WHO* 48:378, 1973.
- (8) Hanssen, H., O. Hincapié y J. H. López. Influenza en porcinos de Antioquia, Colombia. *Bol Of Sanit Panam* 82(1):35-43, 1977.
- (9) Pirtle, E. C. *et al.* Haemagglutination-inhibiting antibodies against swine influenza and Hong Kong influenza viruses in swine sera in the USA. *Bull WHO* 53:7, 1976.
- (10) Sever, J. L. Application of a microtechnique to viral serological investigations. *J Immunol* 88:320-329, 1962.
- (11) Robinson, R. Q. y W. R. Dowdle. Influenza viruses. En: *Diagnostic procedures for viral and rickettsial diseases*. Nueva York: 4ª edición. American Public Health Association, 1969. Págs. 414-433.
- (12) Laver, W. G. y E. D. Kolbourne. *Virology* 30:493, 1966.
- (13) Schild, G. C. y E. W. Newman. *Bull WHO* 41:437, 1969.
- (14) Kilbourne, E. D. *Bull WHO* 41:643, 1969.
- (15) Schild, G. C. y H. G. Pereira. *J Gen Virol* 2:355, 1969.
- (16) Schild, G. C. *et al.* Studies on relationships between human and porcine influenza. Immunological comparisons of human A/Hong Kong/68 virus with influenza viruses of porcine origin. *Bull WHO* 46:721, 1972.
- (17) Kolmer. *Am J Clin Pathol* 24:946, 1954.
- (18) Takisawa, T. Nomograms for getting geometric mean and ninety five percent confidence limits in sample survey of antibody titer. *Nat Inst Anim Health Quart* 11(4):173-226, 1971.
- (19) Vicente, M. *et al.* Vigilancia serológica de influenza A y B en el área poniente de Santiago (1972-1974). *Rev Med Chil* 102:847, 1974.
- (20) Vicente, M. *et al.* Influenza A/Victoria/3/73(H3N2) en Chile. *Cuadernos Médico-Sociales XVIII* 1:26, 1977.
- (21) Beard, C. W. Demonstration of type-specific influenza antibody in mammalian and avian sera by immunodiffusion. *Bull WHO* 42:779, 1971.

Serologic studies of influenza in Chilean swine (Summary)

Swine sera obtained in different regions of Chile were analyzed in relation to human and swine influenza viruses.

Analysis of 112 serum samples obtained in Curicó in 1974 revealed positive reaction percentages ranging from 36.5 to 62.5% in pigs aged 8 to 14 months. The percentage of positive reactions obtained in the inhibition of hemagglutination test human influenza strains belonging to subtype H3N2 was 93% in the 112 serum samples from animals aged over 15 months that were analyzed.

Later, in 1977, a second set of samples was obtained in which the percentages dropped to 21 and 32% in 19 of the sera analyzed, all taken from animals aged 8 to 14 months, and remained at levels ranging from 90 to 100% in 21 sera taken from older animals. In both cases, it was found that the geometric means of the titers

were lower than those of 1974.

In 127 serum samples obtained from swine in other regions of the country that were studied from 1976 to 1977, the percentages of positive reactions obtained in testing the A/Chile/75(H3N2) strain for inhibition of hemagglutination were, like the geometric means, lower than those registered during the same period in Curicó.

Inhibition of hemagglutination reactions registered by positive sera with titers of 1/160 were confirmed by reactions showing their inhibition of neuraminidase. Reactions to immunoprecipitation and complement fixation tests, however, proved negative.

Our study indicates that Chilean swine have been infected by human influenza strains related to subtype H3N2; however, no A/swine/Wisconsin/67 virus antibodies were found.

Estudos serológicos da influenza nos porcinos do Chile (Resumo)

Analisaram-se soros de porcinos procedentes de diversas regiões do Chile por presença de vírus de influenza humana e porcina.

Nos soros obtidos em Curicó em 1974, observaram-se porcentagens de positividade que variaram de 36,5 a 62,5% em porcos entre 8 e 14 meses de idade em 112 amostras testadas. A porcentagem de positividade na prova de inibição da hemaglutinação frente a estirpes de influenza humana pertencentes ao subtipo H3N2, foi de 93% nas 112 amostras estudadas de soros de animais que tinham mais de 15 meses de idade.

Posteriormente, em 1977, obteve-se uma segunda amostra na qual as porcentagens decresceram a 21 e 32% em 19 soros analisados, de animais entre 8 e 14 meses de idade, e mantiveram-se entre 90 e 100% em 21 soros de animais de mais idade. Observou-se nos dois casos uma baixa nas médias geométricas dos

títulos obtidos no concernente a 1974.

Em 127 soros de porcinos provenientes de outras regiões, estudados e testados de 1976 a 1977, as porcentagens de positividade da inibição da hemaglutinação frente à cepa A/Chile/1975 (H3N2) e as médias geométricas foram mais baixas que as obtidas em Curicó, na mesma data.

As reações de inibição da hemaglutinação confirmaram-se nos soros positivos com títulos de 1/160, em reações de inibição da neuraminidase. Não obstante, nas reações de imunoprecipitação e na fixação de complemento os resultados obtidos foram negativos.

Nosso trabalho indica a infecção de porcos no Chile por estirpes de influenza humana relacionadas com o subtipo H3N2; contudo, não se detectaram anticorpos frente ao vírus A/porcino/Wisconsin/67.

Examens sérologiques de grippe porcine au Chili (Résumé)

Des sérums de porcs provenant de différentes régions du Chili ont été analysés en présence de virus de grippe humaine et porcine.

Dans les sérums obtenus à Curicó en 1974, on

a pu observer, dans 112 échantillons examinés, des pourcentages de positivité variant de 36,5% à 62,5% dans des porcs de 8 à 14 mois. Le pourcentage de positivité dans l'épreuve d'in-

hibición de l'hémagglutination en présence de souches de virus de grippe humaine appartenant au sous-type H3N2 fut de 93% dans les 112 échantillons de sérum étudiés provenant d'animaux de plus de 15 mois.

Ultérieurement, en 1977, on obtint un second échantillonnage dans lequel les pourcentages descendirent à 21 et 32% dans 19 sérums analysés d'animaux de 8 à 14 mois, et se maintinrent entre 90 et 100% dans 21 sérums d'animaux plus âgés. Dans les deux cas on a pu observer une baisse dans les mayonnes des titres obtenus par rapport à 1974.

Sur 127 sérums de porcs d'autres régions étudiés de 1976 à 1977, les pourcentages de positivité d'inhibition de l'hémagglutination en

présence de la souche de virus A/Chili/75 (H3N2) et les moyennes géométriques furent plus bas que ceux obtenus à Curicó à la même date.

Les réactions d'inhibition de l'hémagglutination se confirmèrent dans les sérums positifs avec titres de 1/160, en réactions d'inhibition de la neuraminidase. Cependant dans les réactions d'immunoprécipitation et dans la fixation de complément, les résultats obtenus furent négatifs.

Notre étude indique l'infection de porcs au Chili par des souches de virus de grippe humaine en relation avec le sous-type H3N2; cependant des anticorps du virus A/porcino/Wisconsin/67 n'ont pas été détectés.

BROTE DE INFLUENZA EQUINA EN CHILE

Dres. Vicente Muñoz,¹ Manuela Vicente,² Edith Aguilera³ y Patricio Berrios⁴

Se estudió un brote de influenza equina por aislamiento vírico, estudios serológicos y encuestas epizootiológicas. Se encontró que las cepas aisladas estaban estrechamente relacionadas con la cepa de influenza A/equino/Praga/1156 (Hq1Neq1) y que el porcentaje de infección determinado en los equinos estudiados fue cercano al 90%. Estudios paralelos para detectar la posible diseminación del virus equino en la población humana tuvieron resultados negativos.

Introducción

La influenza equina se ha descrito como una enfermedad infecciosa y contagiosa que afecta las vías respiratorias superiores de los equinos y que se caracteriza generalmente por ser de aparición repentina y epizootica.

En Chile se han producido epizootias con características clínicas semejantes a los casos de influenza equina que han ocurrido en el pasado. Sin embargo, el agente causal no se aisló hasta 1973 cuando se obtuvo, de muestras de exudado nasal de equinos enfermos, un agente vírico que se multiplicaba en huevos embrionarios de gallina y que poseía propiedades hemagglutinantes. Dicho agente no fue tipificado, si bien el análisis de sus propiedades biológicas, así como los síntomas clínicos y características epizootológicas de la enfermedad producida, parecían indicar que se trataba de una cepa de influenza equina (1).

En enero de 1977 se detectó en Santiago la aparición de una epizootia respiratoria

¹ Médico Veterinario. El presente trabajo fue presentado como parte de la tesis de Doctorado.

² Químico Farmacéutico, Jefe, Sección Virus Respiratorios, Departamento de Virología, Instituto Bacteriológico de Chile, Santiago, Chile.

³ Médico Veterinario, Sección Virus Respiratorios, Departamento de Virología, Instituto Bacteriológico de Chile, Santiago, Chile.

⁴ Médico Veterinario, Profesor, Departamento de Salud e Higiene Animal, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Chile, Santiago, Chile.