

# Vigilancia Epidemiológica del Virus de la Influenza A Porcina llevado a cabo por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA): Resumen de Resultados.

John A. Korslund D.V.M.<sup>2</sup>, David G. Pyburn D.V.M.<sup>3</sup>, Sabrina Swenson D.V.M.<sup>1</sup>, Beverly Schmitt D.V.M.<sup>1</sup>, Aaron Scott D.V.M.<sup>2</sup>, Ellen Kasari D.V.M.<sup>2</sup>, Barbara Martin<sup>1</sup>, Sarah Tomlinson D.V.M.<sup>1</sup>, Amy Vincent D.V.M.<sup>5</sup>, Pravina Kitikoon D.V.M.<sup>5</sup>, Tavis Anderson Ph.D.<sup>5</sup>, Thomas Gomez D.V.M.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>USDA APHIS VS National Veterinary Services Laboratories, Ames, Iowa United States, <sup>2</sup>USDA APHIS VS National Surveillance Unit, Fort Collins CO United States, <sup>3</sup>USDA APHIS VS National Center for Animal Health Programs, Riverdale MD United States, <sup>4</sup>USDA APHIS VS One Health Coordination Office, Atlanta GA United States, <sup>5</sup>USDA ARS NCAH, Ames IA United States

El virus de influenza clásica H1N1 de “origen porcino” fue el único subtipo de influenza que se encontró de forma endémica en la población porcina de EE.UU. durante 70 años. Sin embargo, virus humanos de influenza estacional H3N2 emergieron en la población porcina de EE.UU. en 1998 como resultado de una recombinación triple con genes de humanos, cerdos y linajes del virus aviar. Desde entonces, se han documentado varias introducciones de virus humanos que se han recombinado en cerdos luego de cada introducción, lo que ha llevado a un aumento de la diversidad genética en los virus de influenza A encontrados en la población porcina de EE.UU. A su vez esta creciente heterogeneidad viral ha complicado el control de las infecciones por influenza en la población porcina de EE.UU.

La comunidad de salud pública y la industria porcina se han vuelto cada vez más conscientes de los casos esporádicos de infecciones por influenza A en humanos con virus que han demostrado ser genéticamente similares a los aislados en porcinos. En 2008 se creó un Acuerdo Interinstitucional entre los Centros de EE.UU. para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC), el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) Servicio de Inspección de Sanidad Agropecuaria (APHIS) y el Servicio de Investigación del USDA-Agrícola (ARS) para desarrollar un estudio piloto de vigilancia de la influenza A de virus aislados en cerdos. El propósito del programa piloto fue el de incrementar el conocimiento de la diversidad de las cepas de la influenza A encontradas en la población porcina EE.UU.

Este esfuerzo sólo había comenzado cuando la pandemia de influenza emergió en abril de 2009. En respuesta a este evento, el USDA lidero un plan nacional de vigilancia de influenza A carácter más permanente con el objetivo de efectuar un seguimiento de la presencia de infección en porcinos causada por el virus (H1N1) pdm09 de influenza A. Este virus se estableció posteriormente en las poblaciones humanas y porcinas, y los objetivos de la vigilancia en cerdos evolucionaron hacia la documentación de los cambios y recombinaciones en toda la gama de virus de influenza A que afectan a porcinos.

Del 2005 al 2011, el CDC reportó 348 casos humanos de infección por virus de influenza (de todos los subtipos) con la variante de virus que se cree que haber originado a partir de la especie porcina (<http://www.cdc.gov/flu/swineflu/variant-cases-us.htm>). En el año calendario 2012, se reportaron 313 casos humanos de infección por influenza variante (todos los subtipos) en los Estados Unidos, la mayoría de los cuales había experimentado un amplio contacto con cerdos en exposiciones. La mayoría de estas infecciones incluyeron virus estrechamente relacionados (pero no idénticos) Influenza A H3N2 variante "A (H3N2)v" virus que contienen genes de la matriz (M) genes similares al gen M que se encontró en el virus pandémico humano en el 2009.

Estos acontecimientos recientes han servido para centrar aún más el interés de salud pública y sanidad animal en las posibilidades de contagio de infecciones de gripe A de cerdo a los humanos y viceversa. Afortunadamente, el Programa de Vigilancia de la Influenza A Porcina del USDA ha proporcionado a los investigadores y al personal de diagnóstico una creciente variedad de datos de subtipificación y secuenciación de cepas porcinas para informar mejor a las investigaciones de estos incidentes.

Desde un punto de vista de la salud porcina, el Programa de Vigilancia de la Influenza A Porcina del USDA ha proporcionado una imagen mejorada de la diversidad de las cepas aisladas en la población porcina de los EE.UU. Esta información puede ser utilizada para apoyar las decisiones relacionadas con desarrollo de vacunas, pruebas de diagnóstico, y los esfuerzos de investigación para comprender y controlar infecciones de Influenza A en cerdos. A nivel de veterinarios privados y de productores, este programa proporciona un medio de bajo costo que permite obtener información filogenética detallada sobre al menos 3 genes (H, N y M) de las cepas aisladas en los hatos incorporados al programa de vigilancia. Esta información puede ser utilizada para mejorar las decisiones a nivel de hato relacionados con el análisis epidemiológico de los casos, la selección de vacunas y de protocolos de bioseguridad.

## Objetivos

Los objetivos actuales del Programa de Vigilancia de la Influenza A Porcina del USDA son: [1] Monitorear la evolución genética de los virus de la influenza porcina endémica para comprender mejor la ecología del virus influenza endémicas y emergentes; [2] Proveer cepas de aislamientos virales para la investigación y establecer una base objetiva para análisis genético de estas cepas y la información relacionada, y [3] Seleccionar las cepas adecuadas para el desarrollo de reactivos relevantes para el diagnóstico, para la actualización de los ensayos de diagnóstico, y para la producción de semillas de vacunas.

Este documento pone de relieve los resultados obtenidos a partir de las muestras presentadas para el programa de vigilancia hasta abril del 2013.

## Materiales y Métodos

Hay tres componentes en la vigilancia de la gripe porcina, [a] La vigilancia de los cerdos que presentan enfermedades similares a la influenza en las explotaciones de las que se remitieron muestras para pruebas de laboratorio, [b] La vigilancia de cerdos en conexión con nuevos casos humanos de virus de Influenza A, y [c] La vigilancia de cerdos con síntomas compatibles con influenza observados en puntos de concentración, sobre todo cuando existe la posibilidad de alta exposición a los seres humanos. Muestras aprobadas incluyen hisopos nasales de cerdos vivos y / o tejido pulmonar de animales muertos. En algunos casos, las muestras de fluidos orales son aceptados por los laboratorios siempre y cuando tengan un formulario de desvío de protocolos aprobados por el programa de vigilancia.

Los veterinarios privados (o en algunos casos los veterinarios oficiales) pueden incluir hasta 10 muestras por cada remisión enviada a la Red Nacional de Laboratorios de Salud Animal (NAHLN) para evaluaciones diagnósticas. Todas las muestras se examinan con un ensayo de PCR matriz específico para todos los virus de la influenza. Para remisiones de laboratorio con resultados positivos de la matriz, se seleccionan hasta 2 muestras conteniendo los más altos niveles de ácido nucleico para efectuar el aislamiento viral en forma simultánea y para futura prueba de PCR para indicar subtipo A (H1N1, H1N2, H3N2, y / o indeterminada). Los virus aislados se envían al Servicio Nacional de laboratorios de Diagnóstico (NVSL) en Ames Iowa para ser colocado en el Repositorio Nacional de virus de la influenza.

Las cepas virales aisladas se caracterizan aún más a través de la secuenciación de los genes de la matriz (M) hemaglutinina (H), neuraminidasa (N), y, ya sea en NAHLN laboratorios o en NVSL. Los datos de la secuencia genética son entonces enviados electrónicamente a GenBank, una base de datos de secuencia genética abierta al público y mantenida por el Instituto Nacional de Salud (NIH), a disposición de los investigadores para su posterior caracterización genética y utilización en estudios de investigación

Los datos epidemiológicos recogidos en los laboratorios de la red NAHLN incluyen el total de animales y especímenes probados por fecha, estado de origen de la muestra, la razón de remisión de muestras, las pruebas realizadas sobre las muestras y sus resultados, así como la información de la secuencia si es aplicable. La información específica sobre la unidad productiva o veterinario que remite las muestras no se comparte sin previa autorización escrita de los mismos. Estos datos se transmiten semanalmente a los Servicios Veterinarios Nacionales (VS), la oficina del programa de la red de laboratorios NAHLN, y son tabulados mensualmente por la Unidad Nacional de Vigilancia Epidemiológica (NSU) de VS para el análisis y presentación de informes. La información retornada por la red de laboratorios NAHLN es despojada de datos específicos de la muestra para asegurar el anonimato de las mismas.

## Resultados y Conclusiones

Entre el 1 de octubre 2010 y 31 de mayo 2013, el Programa de Vigilancia de la Influenza A porcina del USDA incluyó 28.398 muestras originadas en 7.670 remisiones a la red NAHLN. Adhesiones de laboratorio se han introducido en el USDA Influenza A en el Programa de Vigilancia de la porcina. El programa cuenta con 2.797 remisiones que contienen una o más muestras positivas al PRC de Matriz. Se obtuvieron aislamientos virales en una o más muestras a partir de 1.245 remisiones al laboratorio, y se registraron resultados de subtipificación en 1.927 adhesiones. Se secuenciaron un total de 1.460 muestras y los resultados fueron entrados GenBank.

La figura 1 proporciona los datos del Programa de Vigilancia de la Influenza A porcina del USDA recolectados hasta el 30 de abril de 2013. La figura 2 ilustra el número de casos positivos mensuales obtenidos para cada subtipo. Finalmente, la figura 3 muestra el número de remisiones que el Programa de Vigilancia de la Influenza A porcina del USDA ha entrado en GenBank.

## Discusión

El Programa de Vigilancia de la Influenza A porcina del USDA, anónimo y voluntario, ha demostrado el aumento constante de la participación y ha ganado aceptación en la industria porcina y en la comunidad de salud pública. Se han generado muchos datos muy valiosos que demuestran un alto grado de diversidad dentro de la población de virus de influenza A aisladas a partir de cerdos en EE.UU. Los detallados análisis filogenéticos han demostrado extensas recombinaciones de segmentos virales dentro de la población, con varias probables introducciones virus humanos de influenza A en el grupo de virus de influenza porcinos desde 1998. Esta población viral compleja y dinámica ilustra por qué lograr un control estable y duradera de las infecciones de influenza A en cerdos ha sido y sigue siendo un desafío.

La detallada discusión de estos temas está más allá del alcance de este artículo. Sin embargo, estos resultados ponen de relieve el valor de continuar con este esfuerzo de vigilancia y caracterización. Es sólo a través de la colección de una amplia variedad de muestras de diversas áreas geográficas en función de tiempo que los investigadores puedan entender mejor los patrones cambiantes de virus de influenza A (IAV), la diversidad y los factores epidemiológicos y genéticos que pueden impulsar esos cambios.

Aunque el sistema de vigilancia actual tiene mérito y está proporcionando información valiosa sobre la situación actual de la influenza en los cerdos, un defecto importante de este programa es la incapacidad para obtener la prevalencia de infección verdadera o datos epidemiológicos y de localización más precisos asociados a las remisiones anónimas (a nivel estatal). La gripe A no es una enfermedad de notificación obligatoria en los cerdos en los Estados Unidos y algunos productores siguen siendo reacios a compartir información más detallada con el USDA. Sigue siendo el rol de los investigadores universitarios, expertos en diagnóstico de laboratorio, y en última instancia, de los médicos privados el ganar un mejor entendimiento del hato porcino dentro del sistema de producción y de los patrones de distribución geográfica de la infección, propagación y la evolución del virus.

A pesar de estas limitaciones, este programa ha desempeñado un papel inestimable en el suministro de información sobre las infecciones de influenza A en cerdos, lo que contribuye a una comprensión más holística de la naturaleza compartida de infecciones de influenza A dentro y entre las especies afectadas. Se ha establecido una línea de base sobre la que se pueden comparar todos los futuros cambios en los virus detectados en cerdos. El conocimiento adquirido será utilizado para crear soluciones eficaces tanto dentro de la población de cerdos como también en la interfase entre porcinos y otros huéspedes potenciales.

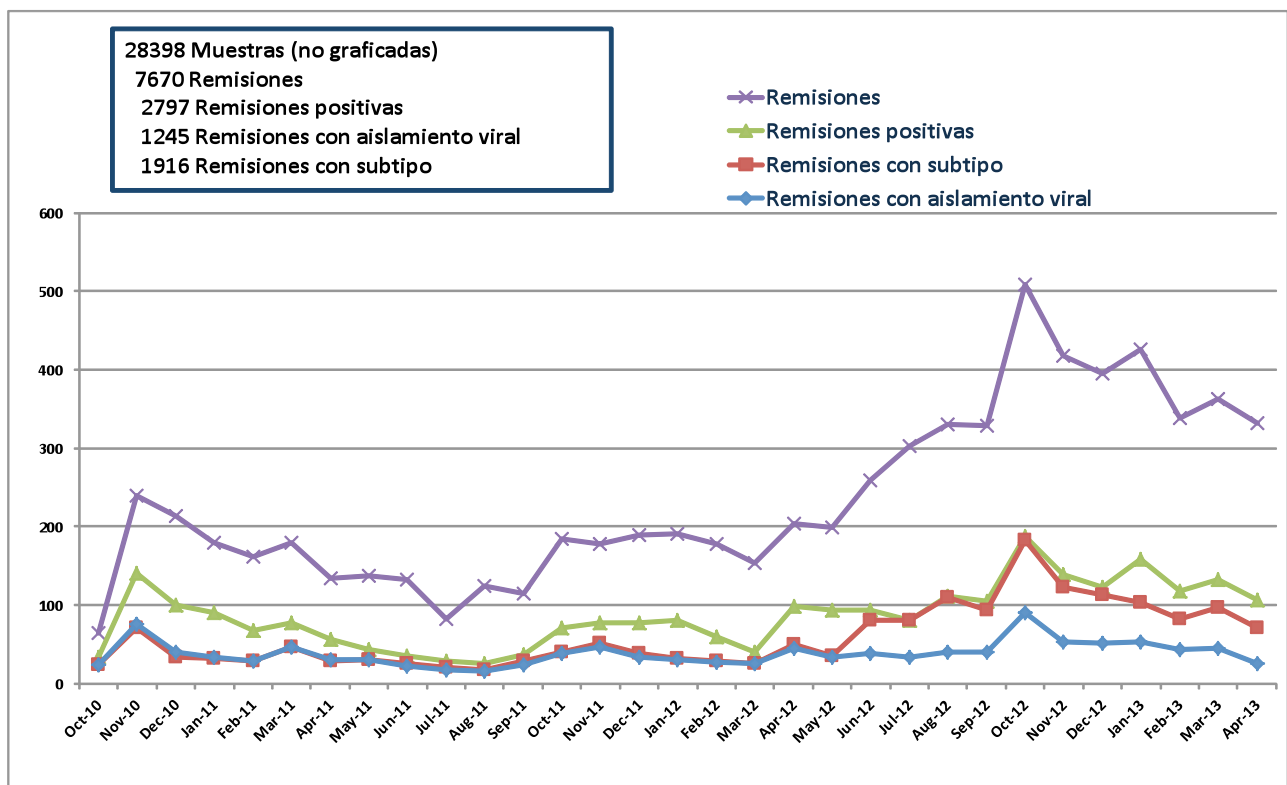


Figura 1. Programa de Vigilancia de la Influenza A porcina del USDA: actividades de aislamiento y caracterización viral entre Octubre 1, 2009 y Abril 30, 2013.

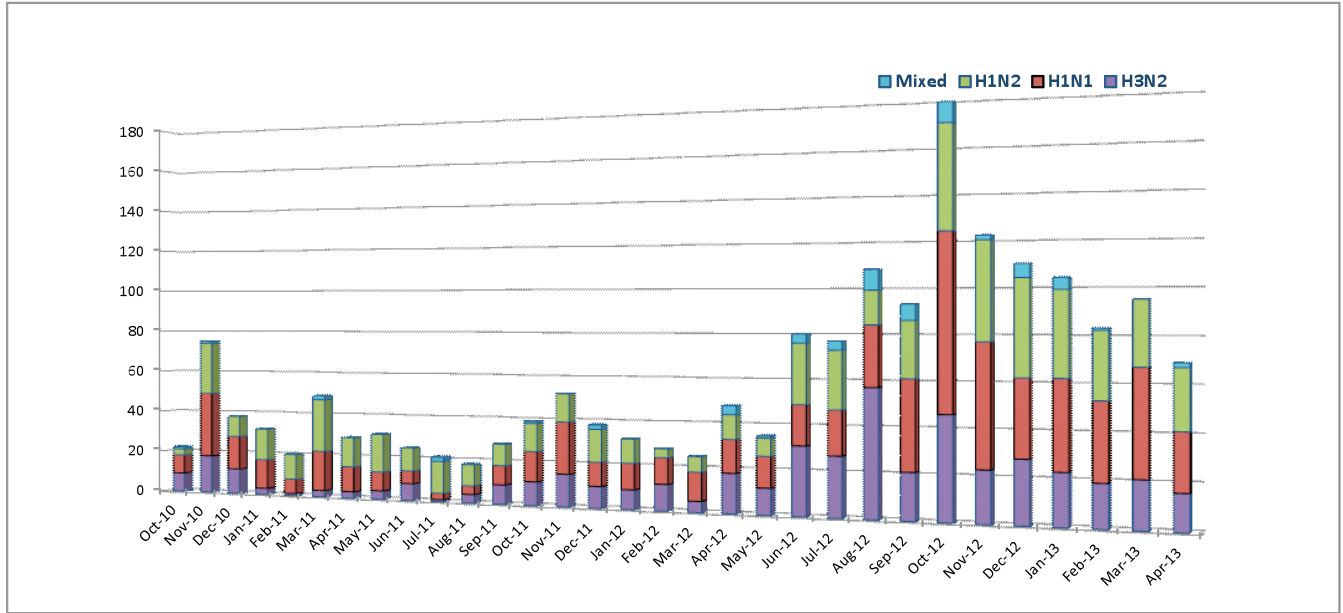


Figura 2. Programa de Vigilancia de la Influenza A porcina del USDA: Subtipos identificados mensualmente entre Octubre 1, 2009 y Abril 30, 2013.

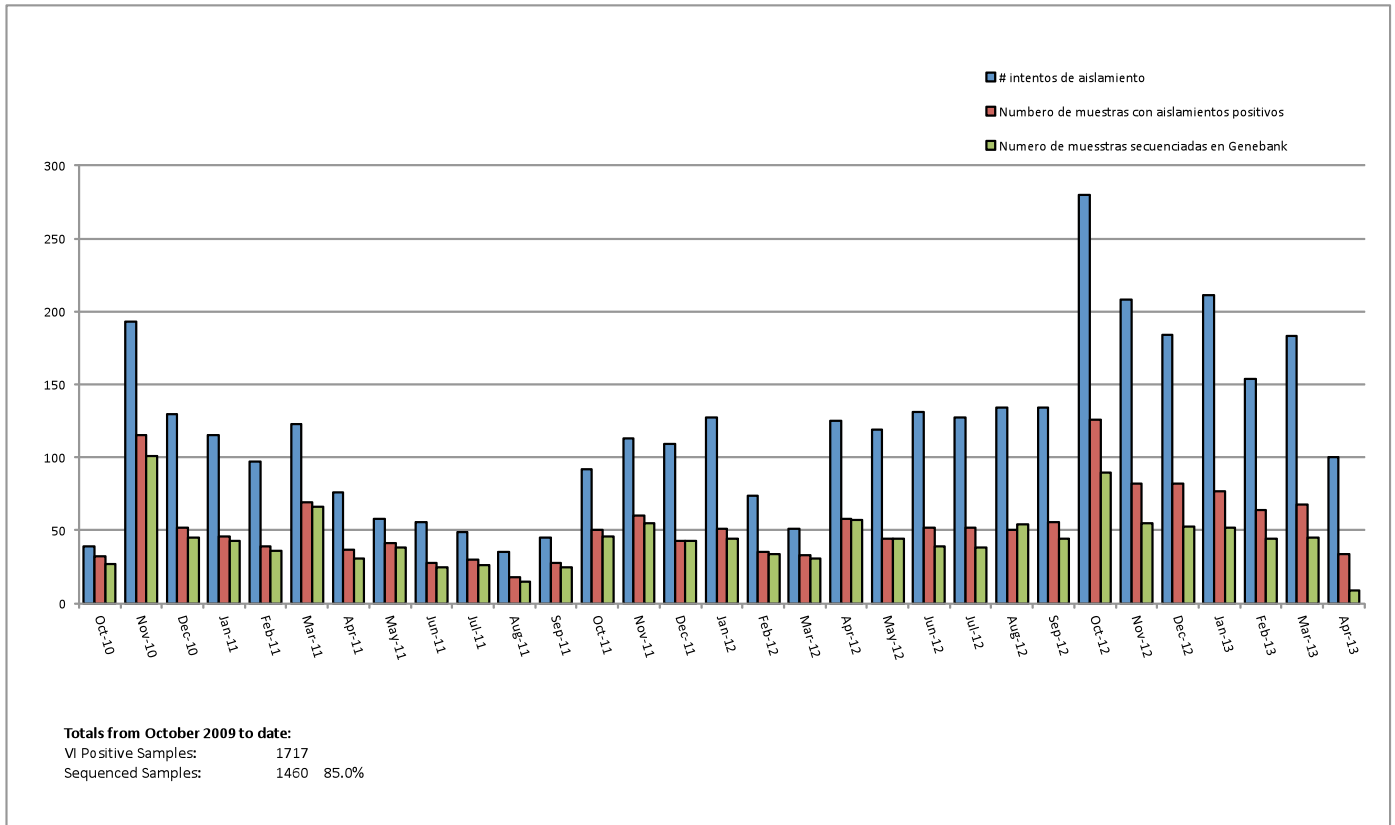


Figura 3. Programa de Vigilancia de la Influenza A porcina del USDA: Remisiones entradas mensualmente en Genebank entre Octubre 1, 2009 y Abril 30, 2013.