

## Comunicación

# Persistencia de anticuerpos maternos contra el virus de Influenza A de campo en porcinos de una granja tecnificada de Lima, Perú

## Persistence of maternal antibodies against field Influenza A virus in pigs from a technologically advanced farm in Lima, Peru

Elizabeth Quispe Garay<sup>1</sup>, Jessica Jurado Pucllas<sup>1</sup>, Lucero Flores Lava<sup>1</sup>,  
Dennis Navarro Mamani<sup>1</sup>, Mercy Ramírez Velásquez<sup>1\*</sup>

### RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la persistencia de los anticuerpos maternos contra el virus de Influenza A (VIA) de campo en porcinos de una granja tecnificada de Lima. Se identificó una granja porcina multisitios con antecedentes de problemas respiratorios y positiva al VIA por RT-PCR en tiempo real. Se tomaron 342 muestras de sangre de 38 porcinos en 9 periodos de muestreo (21, 35, 55, 72, 85, 102, 117, 131 y 144 días de edad). Se utilizó un kit comercial de ELISA de bloqueo para la detección de anticuerpos contra la nucleoproteína del VIA. Se detectaron anticuerpos derivados de la madre (MDA) en 18.4% (7/38) de los lechones a los 21 días y en 10.5% (4/38) a los 35 días de edad, no detectándose estos anticuerpos desde el tercer hasta el noveno muestreo (55 a 144 días). De los 7 animales seropositivos a los 21 días de edad, 4 continuaron seropositivos en el segundo muestreo.

**Palabras clave:** virus de influenza A, ELISA de bloqueo, anticuerpos maternos

<sup>1</sup> Laboratorio de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

\* Autor de correspondencia: Mercy Ramírez Velásquez; [mramirezv@unmsm.edu.pe](mailto:mramirezv@unmsm.edu.pe)

Recibido: 10 de marzo de 2024

Aceptado para publicación: 17 de noviembre de 2024

Publicado: 20 de diciembre de 2024

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

## ABSTRACT

The aim of this study was to determine the persistence of maternal antibodies against field influenza A virus (IAV) in pigs from a high-tech farm in Lima. A multi-site pig farm with a history of respiratory problems and positive for IAV by real-time RT-PCR was identified. In total, 342 blood samples were taken from 38 pigs in 9 sampling periods (21, 35, 55, 72, 85, 102, 117, 131 and 144 days of age). A commercial blocking ELISA kit was used to detect antibodies against the IAV nucleoprotein. Maternally derived antibodies (MDA) were detected in 18.4% (7/38) of piglets at 21 days and in 10.5% (4/38) at 35 days of age. Antibodies were not detected from the third to the ninth sampling (55 to 144 days). Of the 7 seropositive animals at 21 days of age, 4 remained seropositive at the second sampling.

**Key words:** Influenza A virus, blocking ELISA, maternal antibodies

## INTRODUCCIÓN

La industria porcina nacional ha alcanzado un gran desarrollo productivo y tecnológico en las últimas décadas gracias al esfuerzo de los productores porcinos, principalmente de la Región Lima, que concentra la mayor población porcina (1 241 576) y la mayor producción de carne del Perú (78 327 t) (MIDAGRI, 2022). Sin embargo, se ve afectada por las enfermedades infecciosas virales de gran impacto económico como la Influenza A que es considerada una de las enfermedades respiratorias más importante para la industria porcina por la variedad de subtipos virales que co-circulan en campo, por las altas tasas de morbilidad, el tratamiento para contrarrestar las infecciones secundarias bacterianas y porque forma parte del complejo respiratorio porcino (MacLachlan y Dubovi, 2016; Li y Robertson, 2021).

La influenza A es una enfermedad zoonótica de distribución mundial que afecta principalmente al tracto respiratorio de todos los mamíferos y aves, ocasionado severas epidemias y pandemias en el mundo (Li y Robertson, 2021). El agente causal es el virus de Influenza A (VIA) perteneciente a la familia Orthomyxoviridae, género *Alphainfluenzavirus*. El virus está constituido por una

hebra de ácido ribonucleico (ARN) de polaridad negativa y segmentada que codifica importantes proteínas que forman la estructura viral como las glicoproteínas: Hemaglutinina (HA) y Neuraminidasa (NA) presentes en la envoltura viral. Su genoma segmentado de ARN le confiere al virus la facilidad para el surgimiento de nuevos subtipos virales debido al reordenamiento genético que ocurre dentro de una célula al ser infectada por dos subtipos con HA y NA distintos. Hasta la fecha se conocen 18 tipos de HA y 11 tipos de NA (Soares *et al.*, 2021; Rabalski *et al.*, 2023).

En la población porcina se han identificado a los subtipos H1N1, H1N2 y H3N2 (ICTV, 2022; OMSA, 2023). La transmisión puede ser por contacto directo entre cerdos, humano-cerdo o ave-cerdo, así como a través de secreciones, aerosoles, fómites y camiones transportadores (Torremorell *et al.*, 2012). Los signos clínicos se manifiestan luego de un corto periodo de incubación mediante estornudos, descarga nasal, disnea, letargia, temperatura superior a 40.5 °C y la posibilidad de abortos e infertilidad (Dibárbora, 2016; Li y Robertson, 2021).

Si bien el lechón neonato es inmunológicamente competente aún presenta un sistema inmunológico inmaduro (Pyo *et al.*,

2015). Por tanto, la protección del lechón en sus primeras semanas de vida dependerá de la inmunidad conferida por la madre a través de los anticuerpos maternos (*MDA, maternal derived antibody*) y de su sistema inmunológico (Deblanc *et al.*, 2018). La cantidad de MDA que la madre transfiere al lechón es variable y esto va a depender del tiempo de infección de la marrana por el VIA, el subtipo viral y la cantidad de calostro ingerido por el lechón (Markowska-Daniel *et al.*, 2011). Además, se indica que niveles altos de anticuerpos anti-influenza pueden interferir con las vacunas contra el VIA (Cador *et al.*, 2016; Martínez-Boixaderas *et al.*, 2022).

En el Perú, los únicos trabajos sobre el VIA en cerdos son el de Tinoco *et al.* (2016) que reportaron el subtipo H1N1 pandémico en cerdos de crianza de traspatio en Tumbes y el de Flores *et al.* (2023), quienes encontraron una frecuencia de 24.9% de anticuerpos contra el VIA en granjas porcinas de Lima, Ica y Arequipa. Por esta razón, el objetivo del estudio fue determinar la permanencia de los anticuerpos maternos contra una infección natural del VIA en porcinos de una granja tecnificada de Lima. El estudio permitirá conocer hasta que edad los lechones estarían protegidos o susceptibles a una infección por el VIA, además de conocer la edad en que podría administrarse una vacuna comercial o autógena contra el VIA, sin que esta se vea afectada por la inmunidad maternal (Markowska-Daniel *et al.*, 2011; Pyo *et al.*, 2015).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Lugar y Colección de Muestras

El estudio se realizó en una granja porcina tecnificada multisitios ubicada en el distrito de Huacho, provincia de Huaura, Región de Lima, Perú. La granja había reportado antecedentes de problemas respiratorios en cerdos de cría y engorde, así como resultados positivos al VIA por RT-PCR en tiempo real dos meses antes de realizar el estu-

dio. La granja tiene tres sitios alejados entre sí y maneja un programa sanitario que incluye la vacunación contra *Leptospira*, *Erisipela* y *Parvovirus* (triple porcina), *Peste Porcina Clásica* (PPC), *Circovirus porcino 2* (CVP2) y *Mycoplasma hyopneumoniae*. El trabajo se desarrolló desde mayo a diciembre de 2022.

Se seleccionaron 38 lechones al azar durante el destete y fueron identificados con aretes del 1 al 38 para un mejor manejo durante el periodo de estudio. Se tomaron muestras de sangre cada 15 días en promedio (21, 35, 55, 72, 85, 102, 117, 131 y 144 días de edad), lo que resultó en 9 periodos de muestreo. La toma de muestra se realizó en tubos al vacío para la colección de suero y fue realizada por el Médico Veterinario responsable de la granja utilizando su propio protocolo.

### Tamaño Muestral

El número de animales (n=38) se determinó mediante la fórmula de diferencias de proporciones para muestras pareadas (Connor, 1987). Se consideró 24% para la frecuencia de anticuerpos en el destete y 56% en la cría (Tinoco *et al.*, 2016), 95% de nivel de confianza y 80% como poder de la prueba. En total, se procesaron 342 muestras de suero.

Las muestras de sangre (5 ml) fueron transportadas en una caja térmica de poliestireno expandido con geles refrigerantes al Laboratorio de Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Las muestras fueron centrifugadas a 700 G por 5 min y los sobrenadantes (suero sanguíneo) fueron almacenados en pequeños viales a -80 °C hasta completar todos los muestreos.

### ELISA de Bloqueo

Se utilizó la prueba de ELISA de bloqueo *IDEXX influenza A Ab test* (IDEXX, EE. UU.) para la detección de anticuerpos

Cuadro 1. Anticuerpos maternos contra el virus de Influenza A (VIA) detectados en porcinos mediante la prueba de ELISA de bloqueo en una granja tecnificada de Lima, Perú

| Muestreo | Edad de los animales (días) | Muestras  |                             |                |              |
|----------|-----------------------------|-----------|-----------------------------|----------------|--------------|
|          |                             | Total (n) | Positivas <sup>1</sup> (n)* | Frecuencia (%) | IC al 95%    |
| 1°       | 21                          | 38        | 7                           | 18.4           | 6.10 – 30.75 |
| 2°       | 35                          | 38        | 4                           | 10.5           | 0.77 – 20.28 |
| 3° - 9°  | 55-144                      | 38        | 0                           | 0              | 0            |

<sup>1</sup> Se consideró la relación M/N<0.6 como muestra positiva a anticuerpos contra el VIA

contra la nucleoproteína (NP) del VIA. Se calculó el coeficiente M/N (muestra/control negativo) expresado en densidades ópticas (DO), clasificando las muestras como positivas a anticuerpos contra el VIA si presenta un índice M/N <0.6 (IDEXX, 2018).

### Análisis de la Información

Se realizó la distribución de frecuencias de animales positivos a anticuerpos contra el VIA de acuerdo con la edad de los animales en cada muestreo. Se calculó el intervalo de confianza (IC) al 95% con aproximación a la normal (Sullivan, 2017) y la diferencia de

proporciones entre los periodos correspondientes a 21 y 35 días (Dagnino, 2014).

## RESULTADOS

Las frecuencias de anticuerpos maternos contra el VIA al momento del destete (21 días) fue de 18.4% (7/38) y en gorrinos de recría (35 días) de 10.5% (4/38). Desde el tercer hasta el noveno muestreo (55 a 144 días) todos los animales resultaron negativos a anticuerpos contra VIA (Cuadro 1). Los valores del IC al 95% y la diferencia de

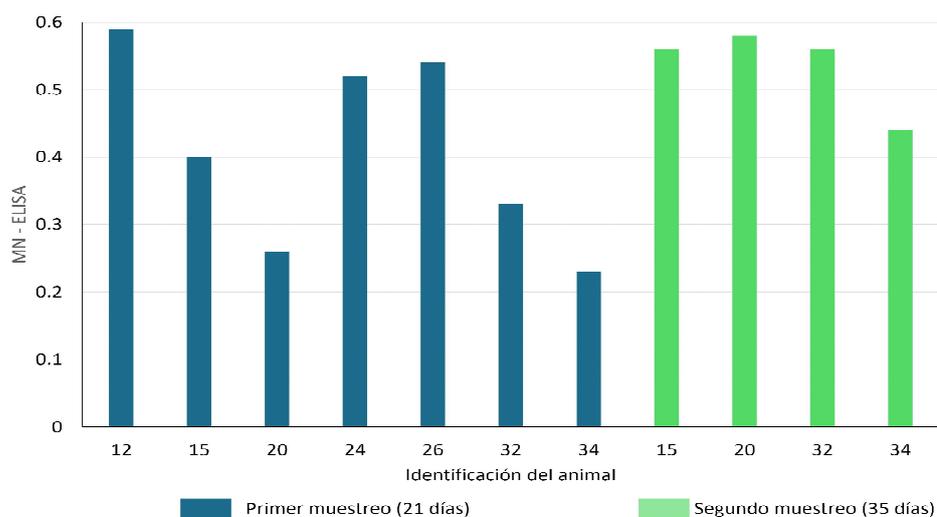


Figura 1. Cerdos con anticuerpos maternos en el 1° (destete, 21 días de edad) y 2° muestreo (35 días de edad) detectados mediante la prueba de ELISA de bloqueo

proporciones entre los 21 y 35 días no mostraron diferencias significativas ( $p=0.33$ ). Asimismo, de los 7 animales seropositivos (N.º 12, 15, 20, 24, 26, 32 y 34) en el primer muestreo, 4 continuaron seropositivos en el segundo muestreo (N.º 15, 20, 32 y 34) (Figura 1).

## DISCUSIÓN

Los MDA fueron detectados en el 1º (21 días) y 2º (35 días) muestreo; es decir, el 18.4% (7/38) y el 10.5% (4/38) de los lechones mostraron anticuerpos contra el VIA, respectivamente (Cuadro 1). Estos resultados, coinciden con lo reportado por Dibárbora (2016), quien detectó la caída de MDA entre los 21 y 35 días de edad en lechones provenientes de marranas expuestas naturalmente al VIA. Un estudio similar realizado por Calcina *et al.*, (2014), en una granja tecnificada de Lima, encontró MDA contra el virus del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino en 26% de lechones a los 32 días y de un animal a los 61 días de edad. La permanencia de los MDA es bastante variable entre patógenos y dependerá tanto del volumen como el tiempo de calostro ingerido por el lechón (Martínez-Boixaderas *et al.*, 2022).

La baja frecuencia de animales seropositivos en el primer y segundo muestreo pudo deberse a una limitada exposición del VIA a las marranas durante la gestación y la maternidad. Asimismo, es posible que la prevalencia durante el estudio haya sido menor a 24% (Flores *et al.*, 2023) que fue la prevalencia utilizada para el cálculo del tamaño muestral ( $n=38$ ); por consiguiente, se hubiera necesitado mayor tamaño de muestra para detectar a los animales serológicamente positivos al VIA. Las pruebas serológicas que detectan anticuerpos contra el VIA en cerdos son relevantes para el diagnóstico de la enfermedad clínica, inmunidad de granja, estudios epidemiológicos y para el monitoreo después de la vacunación (Van Reeth y Vincent, 2019). Por otro lado, en el país no

está autorizado el uso de vacunas contra el VIA en porcinos, por lo que la detección de animales serológicamente positivos en el presente estudio señala una exposición al virus de campo.

La técnica más utilizada para medir los niveles de MDA en suero de marranas y lechones es el ensayo inmunoenzimático ligado a enzimas (ELISA) (Martínez-Boixaderas *et al.*, 2022). Es así que, en el presente estudio, se utilizó la técnica de ELISA de bloqueo (Laboratorios IDEXX, EE. UU.) que está licenciada, validada y estandarizada para la detección de anticuerpos contra el VIA en porcinos, independientemente del subtipo viral (Ciacci-Zanella *et al.*, 2010; Panyasing *et al.*, 2013). Esta técnica cuenta con una sensibilidad y especificidad de 96.6 y 99.3%, respectivamente, detectando anticuerpos a partir del día 5 pos-infección (Ciacci-Zanella *et al.*, 2010).

No se detectaron anticuerpos contra el VIA desde los 55 días de edad (3º muestreo) hasta los 144 días (9º muestreo). Esto indica la ausencia de exposición al VIA en el sitio 2 (crecimiento) y 3 (acabado) de la granja porcina, indicando un adecuado manejo sanitario y productivo de la granja. Estos resultados contrastan con lo reportado por Chamba *et al.* (2019), quienes reportaron picos de anticuerpos contra el VIA después de la caída de los MDA.

En la Figura 1 se observa que de los siete lechones de 21 días (1º muestreo) positivos a anticuerpos contra el VIA ( $M/N<0.6$ ), cuatro de ellos continuaron siendo positivos hasta los 35 días de edad (2º muestreo), que corresponde a los lechones con los valores más bajo de  $M/N$ . Estos resultados sugieren que los MDA inducidos por infección de campo contra el VIA tienen un corto tiempo de duración y que son catabolizados rápidamente. En algunos estudios, el tiempo promedio que declinan los MDA es entre 7-8.5 semanas (Martínez-Boxaideras *et al.*, 2022), siendo esto variable entre individuos e inclusive entre lechones de una misma camada (Markowska-Daniel *et al.* 2011).

Si bien en el Perú no está autorizado el uso de vacunas comerciales contra el VIA en cerdos, en países donde se utiliza es importante conocer el tiempo de duración de los MDA para evitar interferencias con la vacuna comercial (Martínez-Boxaideras *et al.*, 2022). Este es el primer estudio de persistencia de los MDA contra una exposición de campo del VIA en una granja tecnificada de Lima, que puede utilizarse como un estudio base para desarrollar otros trabajos de investigación que involucren el uso de vacunas comerciales en el país.

### CONCLUSIONES

- La permanencia de anticuerpos derivados de la madre (MDA) contra el virus de Influenza A (VIA) de campo se evidenció hasta los 35 días de edad del lechón.
- La frecuencia de anticuerpos contra el VIA en el primer muestreo (21 días) y segundo muestreo (35 días) fue 18.4 y 10.5%, respectivamente.

### LITERATURA CITADA

1. **Cador C, Rose N, Willem L, Andraud M. 2016.** Maternally derived immunity extends swine Influenza A virus persistence within farrow-to-finish pig farms: insights from a stochastic event-driven metapopulation model. *PLoS One* 11: e0163672. doi: 10.1371/journal.pone.0163672
2. **Calcina J, Rivera H, Ramírez M, More J, Arroyo G, Acosta F, Manchego A. 2014.** Cinética de anticuerpos contra el virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino durante las etapas de recría, engorde y acabado en una granja de lima. *Rev Inv Vet Perú* 25: 88-94. doi: 10.15381/rivep.v25i1.8472
3. **Chamba F, Wayne S, Culhane M, Perez A, Allerson M, Torremorell M. 2019.** Effect of strain-specific maternally-derived antibodies on influenza A virus infection dynamics in nursery pigs. *PLoS One* 14: e0210700. doi: 10.1371/journal.pone.0210700
4. **Ciacci-Zanella J, Vincent A, Prickett J, Zimmerman S, Zimmerman J. 2010.** Detection of anti-influenza A nucleoprotein antibodies in pigs using a commercial influenza epitope-blocking enzyme-linked immunosorbent assay developed for avian species. *J Vet Diagn Invest* 22: 3-9. doi: 10.1177/10406387-1002200102
5. **Connor R. 1987.** Sample size for testing differences in proportions for the paired-sample design. *Biometrics* 43: 207-211.
6. **Dagnino J. 2014.** Análisis de proporciones. *Rev Chil Anest* 43: 134-138. doi: 10.25237/revchilanestv43n02.12
7. **Deblanc C, Hervé S, Gorin S, Cador C, Andraud M, Quéguiner S, Barbier N, et al. 2018.** Maternally-derived antibodies do not inhibit swine influenza virus replication in piglets but decrease excreted virus infectivity and impair post-infectious immune responses. *Vet Microbiol* 216: 142-152. doi: 10.1016/j.vetmic.2018.01.019
8. **Dibárbora M. 2016.** Caracterización del virus de influenza en cerdos en Argentina. Tesis de Médico Veterinario. Buenos Aires: Univ. de Buenos Aires. 120 p.
9. **Flores L, Jurado J, Navarro D, Gonzales-Gustavson E, Gavidia C, Gonzáles R, Icochea E, et al. 2023.** Frecuencia de anticuerpos contra el virus de Influenza A en granjas porcinas tecnificadas con antecedentes de signos clínicos respiratorios en la región de Lima, Ica y Arequipa. *Rev Inv Vet Perú* 34: e24610. doi: 10.15381/rivep.v34i1.24610
10. **[ICTV] International Committee on Taxonomy of Viruses. 2022.** USA: Current ICTV Taxonomy Release: Taxon Details. [Internet]. Disponible en: [https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode\\_id=202103956](https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202103956)
11. **IDEXX. 2018.** Prueba IDEXX Influenza A Ab. Estados Unidos: IDEXX. [Internet]. Disponible en: <https://www.idexx.es/es/livestock/livestock-tests/swine-test/idexx-influenza-ab-test>

12. **Li Y, Robertson I. 2021.** The epidemiology of swine influenza. *Anim Dis* 1: 21. doi: 10.1186/s44149-021-00024-6
13. **MacLachlan J, Dubovi E. 2016.** *Fenner's veterinary virology*. 5<sup>th</sup> ed. United States: Elsevier. 602 p.
14. **Martínez-Boixaderas N, Garza-Moreno L, Sibila M, Segalés J. 2022.** Impact of maternally derived immunity on immune responses elicited by piglet early vaccination against the most common pathogens involved in porcine respiratory disease complex. *Porcine Health Manag* 8: 11. doi: 10.1186/s40813-022-00252-3
15. **Markowska-Daniel I, Pomorska-Mól M, Pejsak Z. 2011.** The influence of age and maternal antibodies on the postvaccinal response against swine influenza viruses in pigs. *Vet Immunol Immunop* 142: 81-86. doi: 10.1016/j.vetimm.2011.03.019
16. **[MIDAGRI] Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego. 2022.** Anuario estadístico: Producción Ganadera y Avícola 2021. Lima: MIDAGRI. 164 p.
17. **[OMSA] Organización Mundial de Sanidad Animal. 2023.** Los virus de la Influenza A Porcina. Francia: OMSA. [Internet]. Disponible en: [https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health\\_standards/tahm/3.09.07\\_SWINE\\_INFLUENZA.pdf](https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.09.07_SWINE_INFLUENZA.pdf)
18. **Panyasing Y, Goodell C, Giménez-Lirola L, Kittawornrat A, Wang C, Schwartz K, Zimmerman J. 2013.** Kinetics of influenza A virus nucleoprotein antibody (IgM, IgA, and IgG) in serum and oral fluid specimens from pigs infected under experimental conditions. *Vaccine* 31: 6210-6215. doi: 10.1016/j.vaccine.2013.10.040
19. **Pyo HM, Hlasny M, Zhou Y. 2015.** Influence of maternally-derived antibodies on live attenuated influenza vaccine efficacy in pigs. *Vaccine* 33: 3667-3672. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.06.044
20. **Rabalski L, Milewska A, Pohlmann A, Gackowska K, Lepionka T, Szczepaniak K, Swiatalska A, et al. 2023.** Emergence and potential transmission route of avian influenza A (H5N1) virus in domestic cats in Poland, June 2023. *Euro Surveill* 28: 2300390. doi: 10.2807/1560-7917
21. **Soares A, Diniz A, Reis J, Álvares da Silva B, Chaves M, Guimarães A, Florentino G, et al. 2021.** Swine influenza A virus subtypes circulating in Brazilian commercial pig herds from 2012 to 2019. *Braz J Microbiol* 52: 2421-2430. doi: 10.1007/s42770-021-00550-y
22. **Sullivan L. 2017.** *Confidence Intervals*. Boston: Boston University School of Public Health. [Internet]. Available in: [https://sphweb.bumc.bu.edu/otlt/mph-modules/bs/bs704\\_confidence\\_intervals/bs704\\_confidence\\_intervals\\_print.html](https://sphweb.bumc.bu.edu/otlt/mph-modules/bs/bs704_confidence_intervals/bs704_confidence_intervals_print.html)
23. **Tinoco Y, Montgomery J, Kasper M, Nelson M, Razuri H, Guezala M, Azziz-Baumgartner E, et al. 2016.** Transmission dynamics of pandemic influenza A (H1N1) pdm09 virus in humans and swine in backyard farms in Tumbes, Peru. *Influenza Other Resp* 10: 47-56. doi: 10.1111/irv.12329
24. **Torremorell M, Allerson M, Corzo C, Díaz A, Gramer M. 2012.** Transmission of Influenza A Virus in pigs. *Transbound Emerg Dis* 59: 68-84. doi: 10.1111/j.1865-1682.2011.01300.x
25. **Van Reeth K, Vincent A. 2019.** Influenza Viruses. In: *Diseases of Swine*. 11<sup>th</sup> ed. USA: Wiley-Blackwell. p 576-588.