

Frecuencia de anticuerpos contra el virus de Influenza A en granjas porcinas tecnificadas con antecedentes de signos clínicos respiratorios en las regiones de Lima, Ica y Arequipa

Frequency of antibodies against Influenza A virus in well-managed pig farms with a history of respiratory clinical signs in the regions of Lima, Ica and Arequipa

Lucero Flores Lava¹, Jessica Jurado Pucllas¹, Dennis Navarro Mamani¹, Eloy Gonzales-Gustavson²⁻³, Cesar Gavidia Chucán⁴, Rosa González Véliz⁵, Eliana Icochea D'Arrigo⁵, Juan More Bayona¹, Hermelinda Rivera Gerónimo¹, Mercy Ramírez Velásquez^{1*}

RESUMEN

En el Perú hay evidencia clínica del virus de Influenza A (VIA) y presencia de anticuerpos contra el VIA en cerdos, pero no existen reportes oficiales de frecuencia en granjas porcinas del país. El objetivo del trabajo fue determinar la frecuencia de anticuerpos contra el VIA en granjas tecnificadas de Lima, Ica y Arequipa con antecedentes de problemas respiratorios. Se obtuvieron muestras de sangre de ocho grupos etarios de cerdos durante 2020-2021. La detección de anticuerpos contra el VIA se hizo mediante

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

² Departamento de Salud Animal y Salud Pública, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

³ Instituto Veterinario de Investigación Tropicales y de Altura, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

⁴ Laboratorio de Epidemiología y Economía Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

⁵ Laboratorio de Patología Aviar, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

* E-mail: mramirezv@unmsm.edu.pe

Recibido: 11 de julio de 2022

Aceptado para publicación: 14 de enero de 2023

Publicado: 27 de febrero de 2023

©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

una prueba de ELISA de bloqueo (IDEXX, USA). Se procesaron 283 muestras de suero de Lima, 287 de Ica y 288 de Arequipa. La frecuencia global de anticuerpos contra el VIA fue de 24.9% (I.C. 95% 22.0 – 27.8); mientras que en Lima, Ica y Arequipa fue de 33.2% (I.C. 95% 27.8 – 39.0), 19.5% (I.C. 95% 15.1 – 24.6) y 22.2% (I.C. 95% 17.6 – 27.5), respectivamente. El análisis de regresión logística mostró que en la región Lima, el grupo etario 0 (hasta 21 días) y 5 (91 a 110 días) tuvo mayor oportunidad de presentar anticuerpos contra el VIA, aunque la edad no se consideró como un factor de riesgo (OR<1).

Palabras clave: virus de Influenza A, ELISA de bloqueo, frecuencia, porcino

ABSTRACT

In Peru there is clinical evidence of the Influenza A virus (VIA) and the presence of antibodies against the VIA in pigs, but there are no official reports of frequency in pig farms in the country. The aim of the study was to determine the frequency of antibodies against VIA in technical farms in Lima, Ica and Arequipa with a history of respiratory problems. Blood samples were obtained from eight age groups of pigs during 2020-2021. Antibodies against VIA were detected using a blocking ELISA test (IDEXX, USA). A total of 283 serum samples from Lima, 287 from Ica and 288 from Arequipa were processed. The overall frequency of antibodies against VIA was 24.9% (95% CI 22.0 – 27.8); while in Lima, Ica and Arequipa it was 33.2% (95% CI 27.8 - 39.0), 19.5% (95% CI 15.1 - 24.6) and 22.2% (95% CI 17.6 - 27.5), respectively. The logistic regression analysis showed that in the Lima region, the age group 0 (up to 21 days) and 5 (91 to 110 days) had a greater chance of presenting antibodies against VIA, although age was not considered a risk factor (OR<1).

Key words: Influenza A virus, blocking ELISA, frequency, swine

INTRODUCCIÓN

En la última década la porcicultura nacional está alcanzando un importante desarrollo productivo debido a mayores inversiones en tecnología y genética a través de la importación de germoplasma y razas mejoradas, principalmente en la costa peruana que alberga el 32.8% de granjas tecnificadas del país (MINAGRI, 2021). Sin embargo, este desarrollo está siendo afectado por agentes virales que merman la productividad del cerdo como el virus de Influenza A (VIA), una zoonosis causante de la enfermedad respiratoria más importante en humanos y animales (Garten *et al.*, 2009) por las recombinaciones genéticas que existen entre los subtipos que infectan a cerdos, aves y humanos.

El virus de Influenza A es el agente causal de Influenza Porcina (IP) y forma parte del Complejo Respiratorio Porcino (CRP) junto al virus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino (PRRSv), Circovirus porcino tipo 2 (CVP-2) y *Mycoplasma hyoneumoniae*, afectando la producción porcina por el aumento en los costos de producción y limitando el potencial de exportación (Schmidt *et al.*, 2015; Pallarés *et al.*, 2020).

El VIA es un virus envuelto que pertenece al género Influenza A de la familia Orthomyxoviridae, posee un genoma de ARN de polaridad negativa y segmentada y se clasifica en subtipos según las diferencias antigénicas de las dos principales glicoproteínas de superficie: Hemaglutinina (H) y Neuraminidasa (N) (ICTV, 2020). La natu-

raleza segmentada del genoma viral permite la generación de nuevas variantes antigénicas al intercambiar segmentos de ARN durante el proceso de replicación viral cuando dos virus del mismo género infectan de manera conjunta a una misma célula, proceso conocido como “reordenamiento” genético (Hurt *et al.*, 2016). En el cerdo, los subtipos más predominantes son el H1N1, H1N2 y H3N2 (Lewis *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2018).

Los cerdos son considerados «recipientes mezcladores» para los virus de la influenza humana, aviar y porcina, debido a que presenta receptores de ácido siálico de unión a la galactosa $\alpha 2-6$ (mamíferos) y $\alpha 2-3$ (aves y equinos) en células epiteliales respiratorias porcinas (De Graaf y Fouchier, 2014). Esta característica molecular del cerdo da lugar a los eventos de reordenamiento genético descritos anteriormente con la posibilidad de ocasionar epidemias y pandemias humanas (Rajao *et al.*, 2019).

Las infecciones por el VIA en el cerdo ocasionan signos clínicos respiratorios como tos, estornudos, descarga nasal, temperatura rectal elevada, letargia y dificultad respiratoria (Torremorell, 2021). Los cerdos infectados comienzan a eliminar el virus dentro de las 24 horas posteriores a la infección, y, por lo general, lo eliminan durante un periodo de 7 a 10 días (OIE, 2021). La ruta principal de transmisión es por contacto directo con secreciones oronasales con títulos de hasta 1×10^7 partículas infecciosas/ml en el pico de la excreción viral (Zimmerman *et al.*, 2019; Torremorell, 2021).

En el Perú existen escasos estudios sobre la epidemiología del virus de influenza A en cerdos a pesar del rol que juega esta especie dentro de la ecología de la enfermedad y que constituye una de las zoonosis más devastadoras del ser humano. El único trabajo de serología sobre el VIA fue desarrollado por Tinoco *et al.* (2015), quienes encontraron una prevalencia de 8 y 24% en cerdos de granjas de traspatio durante el pico de la pandemia humana (octubre, 2009) y pos-

pandemia (abril, 2010), respectivamente. Ante esto, el objetivo del presente estudio fue determinar la frecuencia de anticuerpos contra el virus de Influenza A en cerdos de los departamentos de Lima, Ica y Arequipa como base para futuros estudios epidemiológicos sobre esta enfermedad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar y Colección de Muestras

El estudio se realizó en granjas porcinas tecnificadas de la región Lima, Ica y Arequipa (Perú) con antecedentes de problemas respiratorios como tos, disnea, estornudos, secreción nasal y/o fiebre, durante los años 2020 al 2021.

Las muestras de sangre de los porcinos de diversas edades y sin distinción de sexo fueron colectadas por los médicos veterinarios responsables de cada granja como medida de bioseguridad y restricciones de movimiento causadas por la pandemia del COVID-19. En todos los casos se utilizó el protocolo disponible para toma de muestras sanguíneas en cada predio.

Tamaño Muestral

El número de animales a muestrear ($n=281$) para cada región (Lima, Ica y Arequipa) se determinó aplicando la fórmula de estimación por proporción (Dhand y Khatkar, 2014). Para esto se utilizó el valor de 24% como prevalencia referencial de influenza A en porcinos (Tinoco *et al.*, 2015), un nivel de confianza de 95% y un error del 5%. En total se procesaron 858 muestras de suero de porcinos.

Las muestras de sangre (5 ml) fueron mantenidas en una caja de tecnopor (poliestireno expandido) con geles refrigerantes hasta su llegada al Laboratorio de Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de

San Marcos en Lima. Las muestras fueron centrifugadas a 70 g por 5 minutos y los sueros resultantes fueron depositados en viales de 2 ml previamente rotulados y congelados a -80 °C hasta su procesamiento.

Detección de Anticuerpos contra Virus Influenza A

Los anticuerpos fueron analizados mediante la prueba de ELISA de bloqueo para la detección de anticuerpos contra la proteína N (nucleoproteína) del virus de influenza A empleando el kit comercial (*IDEXX influenza A Ab test*, IDEXX, USA), siguiendo las indicaciones del fabricante. La muestra fue considerada positiva a anticuerpos contra el VIA cuando presentó una relación M/N (muestra/control negativo) <0.6 y negativa con un M/N >0.6 (IDEXX, 2020). Se calculó el número de muestras positivas (Thrusfield, 1990) global, así como la frecuencia e intervalo de confianza al 95% de las tres regiones, Lima, Ica y Arequipa (Clopper y Pearson, 1994, Soper, 2022).

La variable edad se categorizó en ocho grupos etarios (0 = hasta 21 días; 1 = 22-35 días; 2 = 36-50 días; 3 = 51-70 días; 4 = 71-90 días; 5 = 91-110 días; 6 = 111-132 días; 7 = 133-152 días), y la variable resultados de la prueba ELISA se interpretó como negativo o

positivo. La prueba estadística utilizada fue análisis de regresión logística multinomial mediante el programa estadístico R.

RESULTADOS

Del total de animales muestreados, la frecuencia de animales positivos en las granjas tecnificadas de Lima, Ica y Arequipa fue de 24.9% (214/858), con un intervalo de confianza al 95% de 22.0 a 27.8% (Cuadro 1). Se pudo observar que las regiones de Ica y Arequipa tenían una menor ocurrencia de animales positivos respecto a Lima. El análisis de regresión logística para el riesgo de presentación de anticuerpos contra el virus de Influenza A indicó diferencias significativas entre Lima y Arequipa ($p < 0.003$) y entre Lima e Ica ($p < 0.0002$). El Odds Ratio indicó un 75% más riesgo de presentar anticuerpos contra el VIA en Lima con respecto a Arequipa; y Lima de 100% con respecto a Ica.

La frecuencia de muestras positivas que se muestra en la Figura 1 explica la dinámica de la seropositividad del virus de influenza A en el ganado porcino en las granjas de Arequipa, Ica y Lima con antecedentes de procesos respiratorios. Se observa una mayor frecuencia de animales seropositivos en

Cuadro 1. Presencia de muestras positivas a anticuerpos contra el virus de Influenza A (VIA) en Lima, Ica y Arequipa (2020-2021)

Región	Muestras (n)		Frecuencia relativa e IC 95% (%)
	Colectadas (n)	Positivas ¹ a Ac contra el VIA (n)	
Lima	283	94	33.2% (27.8 – 39.0)
Ica	287	56	19.5% (15.1 – 24.6)
Arequipa	288	64	22.2% (17.6 – 27.5)
Total	858	214	24.9% (22.0 – 27.8)

¹ Las muestras fueron consideradas positivas a anticuerpos contra el VIA cuando la relación M/N <0.6

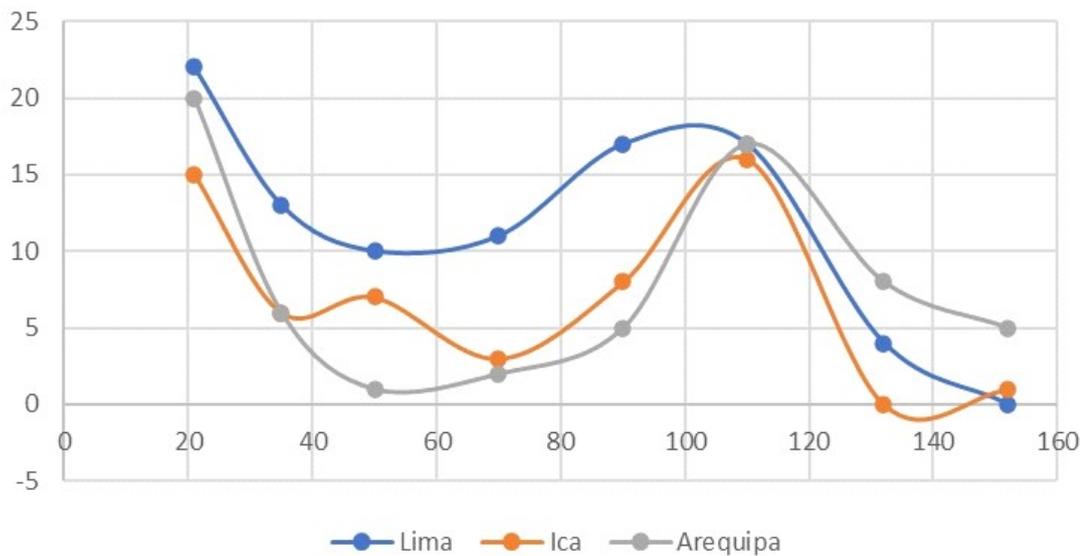


Figura 1. Dinámica de positividad anticuerpos (%) contra el virus de Influenza A en porcinos por región, Perú (2020-2021). Cada representa un grupo etario (≤ 21 , 22-35, 36-50, 51-70, 71-90; 91-110, 111-132, 133-152 días)

los grupos etarios más jóvenes con tendencia al descenso con la edad, para volver a subir en los grupos etarios de 71 a 110 días de edad, para luego volver a descender en animales de mayor edad.

Siguiendo el mismo criterio, se realizó análisis de regresión logística para comprobar si las diferencias observadas son estadísticamente significativas. Entre los grupos etarios, utilizando el grupo etario 0 (hasta 21 días) como basal por tener la mayor frecuencia de animales positivos, se encontró diferencias significativas con los grupos etarios 1, 2, 3, 4, 6 y 7, a excepción del grupo etario 5 (Figura 1). El análisis de regresión logística mostró que en la región Lima, el grupo etario 0 (hasta 21 días) y 5 (91 a 110 días) tuvo mayor oportunidad de presentar anticuerpos contra el VIA, aunque la edad no se consideró como un factor de riesgo ($OR < 1$).

Al evaluarse las dos variables de interés (región y grupo etario) en un modelo de regresión logística múltiple, donde existe la posibilidad de identificar efectos confundentes a través de sus interacciones, se observa interacciones significativas, de modo que la frecuencia de enfermedad dentro de los grupos etarios no fue igual en las tres regiones.

DISCUSIÓN

La población de porcinos en el Perú fue de 3 265 145 en 2020, bastante similar a la población registrada en 2019 (3 258 809) (MINAGRI, 2021), a pesar del impacto económico que atraviesa el país por la actual coyuntura sanitaria del SARS-CoV2. En el país se tiene el reglamento sanitario porcino (DS N.º 002-2010-AG) desde 2010 que contempla todas las acciones y medidas sanitarias establecidas por SENASA para preve-

nir, controlar y erradicar las enfermedades porcinas de mayor impacto económico, tales como el virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRSv), el virus de Aujeszky (VAD), peste porcina clásica (PPC) y brucelosis porcina. Sin embargo, no se contempla al VIA en el cerdo a pesar de ser una enfermedad zoonótica en donde este animal juega el rol principal por considerarse el mezclador o generador de nuevas cepas emergentes de subtipos del VIA. Los anticuerpos detectados en los porcinos de crianza tecnificada sugieren su exposición a virus de campo, ya que en el país no está autorizada el uso de vacunas comerciales.

El estudio mostró que la frecuencia de anticuerpos contra el virus de influenza A fue de 24.9% (22.0 – 27.8% IC) considerando las muestras de las tres regiones (Cuadro 1). Los resultados fueron muy similares a los reportados por Tinoco *et al.* (2015), quienes hallaron una prevalencia de 24% en muestras de porcinos de granjas de traspatio en Tumbes, aunque en dicho estudio se utilizó la prueba de inhibición de la hemaglutinación (IH) para la identificación de anticuerpos contra el subtipo H1N1 del VIA, y en el presente trabajo se utilizó un kit comercial de ELISA que identifica todos los anticuerpos secretados contra el VIA. Por otro lado, en el estudio de Muller (2012) en cerdos de crianza tecnificada y de traspatio de Santa Rosa y Quetzaltenango en Guatemala utilizando un kit comercial de ELISA se halló una prevalencia serológica de 0 y 9%, respectivamente.

La frecuencia de anticuerpos contra el VIA en porcinos de granjas tecnificadas por región fue de 33.2% (I.C.: 27.8 – 39.0%), 19.5% (I.C.: 15.1 – 24.6%) y 22.2% (I.C.: 17.6 – 27.5%) para Lima, Ica y Arequipa, respectivamente. La frecuencia más alta fue encontrada en Lima y esto podría deberse a que esta región concentra la mayor cantidad y productividad de cerdos en el Perú (MINAGRI, 2021). La alta densidad de animales en las granjas porcinas tecnificadas es

un factor que incrementa la propagación de la enfermedad, pues su transmisión es a través del contacto directo y aerosoles (Brown, 2000; Poljak *et al.*, 2008).

Históricamente, la técnica para la detección de anticuerpos contra VIA ha sido la prueba de inhibición de la hemaglutinación (IH), porque identifica anticuerpos contra los subtipos del VIA, a diferencia del ELISA que detecta en forma general, todos los anticuerpos contra VIA. La ventaja indicada de la prueba de IH está limitada al requerimiento de las cepas de referencia de los subtipos identificados para poder realizar la técnica; mientras que, el ELISA tiene la principal ventaja de identificar todos los anticuerpos contra el VIA en una sola corrida y se puede trabajar grandes cantidades de muestras (Ciacci-Zanella *et al.*, 2010; Goodell *et al.*, 2014; Zacour *et al.*, 2016).

Anticuerpos contra el VIA fueron detectados en todos los grupos etarios. Los resultados de la regresión logística revelan que los cerdos pertenecientes al grupo etario 0 (hasta 21 días) y grupo etario 5 (91 a 110 días) tienen mayor oportunidad de presentar ocurrencia de animales positivos a anticuerpos contra VIA en comparación con otros grupos etarios. En este sentido, Garrido-Mantilla *et al.* (2019) reportaron que lechones entre 18 y 21 días de edad era el grupo etario con mayor probabilidad para detectar al virus de influenza A, en tanto que Allerson *et al.* (2013) documentaron la función de los lechones como reservorio del virus, así como el mantenimiento de la infección viral en granjas y la introducción del virus en las poblaciones destetadas.

Larsen *et al.* (2010) observaron que los neonatos en ausencia de marranas positivas pueden actuar potencialmente como portadores. Los lechones obtienen la inmunidad pasiva de la madre al nacer, la cual va disminuyendo con el tiempo, favoreciendo la exposición a lechones de mayor edad o de otras fuentes de infección presente en el medio.

Esta inmunidad provee una protección contra virus antigénicamente similares al VIA, lo que se conoce como protección homóloga. Asimismo, Allerson *et al.* (2013) demostraron la presencia del virus durante 70 días en cerdos de 90 a 110 días de edad, alojados en cebadero donde no se incluyeron animales de otras procedencias. Esto sugiere que el virus puede persistir en la población porcina más tiempo del esperado.

Actividades de manejo como destete, aretado, vacunaciones, etc., puede influir en un estrés adicional, favoreciendo que el organismo se encuentre temporalmente inmunocomprometido y más susceptible a la infección por patógenos presentes en las granjas, como el VIA. Esto podría explicar el ascenso de animales seropositivos en el grupo etario 2 (36 a 50 días) de las granjas de la región Ica, debido a un desafío por el VIA de campo, ya que en el país no se utilizan vacunas comerciales como medida de prevención (Hollis, 2022). Por otro lado, se debe considerar que el número de muestras por grupo etario en Ica no es uniforme, siendo el grupo etario 2 el de mayor tamaño muestral, lo cual podría sesgar los valores encontrados.

No se dispone de información en el país de cómo el VIA ingresó, pero se infiere que podría deberse a la importación de líneas genéticas mejoradas como sucedió con el PRRSv (Ramírez *et al.*, 2019) y la diarrea epidémica porcina (Castro-Sanguinetti *et al.*, 2017). A pesar de haber evidencia clínica, serológica y molecular del VIA en el país, poco se conoce sobre los aspectos epidemiológicos y moleculares de las cepas que circulan en las granjas porcinas. Este trabajo es un estudio inicial que debe ser ampliado con otros trabajos de investigación que involucren estudios de caracterización viral para que las autoridades sanitarias puedan plantear medidas de control y prevención acorde al subtipo viral identificado en granjas porcinas del país.

CONCLUSIONES

- La ocurrencia de muestras positivas a anticuerpos contra el virus de influenza A en porcinos de granjas tecnificadas fue de 24.9% para el global de muestras de las regiones de Lima, Ica y Arequipa.
- La frecuencia de anticuerpos contra el virus de influenza A en porcinos de granjas tecnificadas fue de 33.2% (I.C. 95% 27.8 – 39.0), 19.5% (I.C. 95% 15.1 – 24.6) y 22.2% (I.C. 95% 17.6 – 27.5) en la región de Lima, Ica y Arequipa.
- El análisis de regresión logística multinomial indicó interacción entre regiones y grupos etarios.

Agradecimiento

Este proyecto ha sido financiado por el Proyecto CONCYTEC - Banco Mundial «Caracterización genética e inmunogénica de Influenza A en poblaciones de aves y cerdos como potencial riesgo para la salud pública: Desarrollo de proteínas candidatas como vacunas nativas del Perú», a través de la unidad ejecutora ProCIENCIA (Contrato N.º 002-2019-FONDECYT-BM-INC-INV)

LITERATURA CITADA

1. **Allerson MW, Cardona CJ, Torremorell M. 2013.** Indirect transmission of Influenza A virus between pig populations under two different biosecurity settings. *Plos One* 8: e67293. doi: 10.1371/journal.pone.0067293
2. **Brown IH. 2000.** The epidemiology and evolution of influenza viruses in pigs. *Vet Microbiol* 74: 29-46. doi: 10.1016/s0378-1135(00)00164-4
3. **Castro-Sanguinetti G, Ramírez M, More J, Manchego A, Rivera H. 2017.** Isolation and molecular detection of emerging porcine epidemic diarrhea vi-

- rus strains in Lima, Peru. *Rev Inv Vet Perú* 28: 1010-1019. doi: 10.15381/rivep.v28i4.13885
4. **Ciacci-Zanella JR, Vincent AL, Prickett JR, Zimmerman SM, Zimmerman JJ. 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: 10.1177/104063871002200102
 5. **Clopper C, Pearson ES. 1994.** The use of confidence or fiducial limits illustrated in the case of the binomial. *Biometrika* 26: 404-413.
 6. **De Graaf M, Fouchier R. 2014.** Role of receptor binding specificity in influenza A virus transmission and pathogenesis. *EMBO J* 33: 823-841. doi: 10.1002/emboj.201387442
 7. **Dhand NK, Khatkar MS. 2014.** Statulator: an online statistical calculator. Sample size calculator for estimating a single proportion. [Internet]. Disponible en: <https://statulator.com/SampleSize/sslP.html>
 8. **Garrido-Mantilla J, Alvarez J, Culhane M, Nirmala J, Cano JP, Torremorell M. 2019.** Comparison of individual, group and environmental sampling strategies to conduct influenza surveillance in pigs. *BMC Vet Res* 15: 61. doi: 10.1186/s12917-019-1805-0
 9. **Garten RJ, Davis CT, Russell CA, Shu B, Lindstrom S, Balish A, Deyde V, 2009.** Antigenic and genetic characteristics of swine -origin 2009 A(H1N1) Influenza viruses circulating in humans. *Science* 325: 197-201. doi: 10.1126/science.1176225
 10. **Goodell CK, Prickett J, Kittawornrat A, Johnson J, Zhang J, Wang C, Zimmerman JJ. 2014.** Evaluation of screening assays for the detection of influenza A virus serum antibodies in swine. *Transbound Emerg Dis* 63: 24-35. doi: 10.1111/tbed.12214
 11. **Hollis G. 2022.** Claves para combatir y disminuir el estrés ambiental del cerdo. [Internet]. Disponible en: <https://razasporcinas.com/claves-para-poder-combatir-y-disminuir-el-estres-ambiental-del-cerdo/>
 12. **Hurt AC, Su Y, Aban M, Peck H, Lau H, Baas C, Deng Y, et al. 2016.** Evidence for the introduction, reassortment and persistence of diverse influenza A viruses in Antarctica. *J Virol* 90: 9674-9682. doi: 10.1128/jvi.01404-16
 13. **[ICTV] Viral Taxonomy Committee International. 2020.** Negative sense RNA viruses. Orthomyxoviridae. [Internet]. Disponible en: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy>
 14. **IDEXX. 2020.** Manual de procedimiento para la detección de anticuerpos contra el virus de Influenza. Westbrooke-EEUU. 15 p.
 15. **Larsen LE, Christian NK, Aakerblom S, Hjulsager CK, Nielsen JP, Stege HH, Kristensen CS, et al. 2010.** Dynamics of swine influenza infections in the farrowing unit of a Danish sow herd. In: Proc XXI IPVS Congress. Vancouver, Canada.
 16. **Lewis NS, Russell CA, Langat P, Anderson TK, Berger K, Bielejec F, Burke DF, et al. 2016.** The global antigenic diversity of swine influenza A viruses. *eLife* 5: e12217. doi: 10.7554/eLife.12217.019
 17. **[MINAGRI] Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego. 2021.** Anuario estadístico de la producción ganadera y avícola 2020. Dirección General de Estadística, Seguimiento y Evaluación de Políticas - Perú. [Internet]. Disponible en: <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/2803269/Compendio%20del%20anuario%20%22PRODUCCION%20%93N%20GANADERA%20Y%20AVICOLA%22%202020.pdf>
 18. **Muller ML. 2012.** Prevalencia virológica y serológica de virus de Influenza A en poblaciones de cerdos de dos depar-

- tamentos de Guatemala, 2012. Tesis de Maestría. Guatemala: Univ. del Valle de Guatemala. 50 p.
19. [OIE] *Organización Mundial de Sanidad Animal*. 2021. Swine influenza. an etiology epidemiology diagnosis prevention and control references. Fichas técnicas de Enfermedades de la OIE. [Internet], [24 marzo 2021]. Disponible en: https://www.oie.int/es/documento/swine_influenza/#searchform-header
 20. *Pallarés F, Larenas F, Rodríguez I, Carrasco L, Sanchez J, Ruedas I, Gómez J*. 2020. Neumonías causadas por virus. [Internet]. Disponible en: https://www.3tres3.com.pt/artigos/pneumonias-causadas-por-virus_13414/
 21. *Poljak Z, Dewey CE, Martin SW, Christensen J, Carman S, Friendship RM*. 2008. Prevalence of and risk factors for influenza in southern Ontario swine herds in 2001 and 2003. *Can J Vet Res* 72: 7-17.
 22. *Rajao DS, Vincent AL, Perez DR*. 2019. Adaptation of human influenza viruses to swine. *Front Vet Sci* 5: 347. doi: 10.3389/fvets.2018.00347
 23. *Ramírez M, Bauermann F, Navarro D, Rojas M, Manchego A, Nelson, Diel D, Rivera H*. 2019. Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSv) 1-7-4-type strains in Peru. *Transbound Emerg Dis* 66: 1107-1113. doi: 10.1111/tbed.13134
 24. *Schmidt C, Cibulski SP, Andrade CP, Teixeira TF, Varela APM, Scheffer CM, Franco AC, et al*. 2015. Swine influenza virus and association with the porcine respiratory disease complex in pig farms in southern Brazil. *Zoonoses Public Hlth* 63: 234-240. doi: 10.1111/zph.12223
 25. *Soper DS*. 2022. Binomial probability confidence interval calculator. [Internet]. Disponible en: <https://www.danielsoper.com/statcalc>
 26. *Thrusfield M*. 1990. Epidemiología veterinaria. Zaragoza, España: Acribia. 339 p.
 27. *Tinoco YO, Montgomery JM, Kasper MR, Nelson MI, Razuri H, Guezala MC, Azziz-Baumgartner E, et al*. 2015. 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
 28. *Torremorell M*, 2021. Influenza A virus in swine (Hog flu, Pig flu). Merck Manual, Veterinary Manual. [Internet]. Disponible en: <https://www.merckvetmanual.com/respiratory-system/respiratory-diseases-of-pigs/influenza-a-virus-in-swine>
 29. *Wang LB, Chen QY, Wu XM, Che YL, Wang CY, Chen RJ, Zhou LJ*. 2018. Isolation of a reassortant H1N2 swine flu strain of type «swine-human-avian» and its genetic variability analysis. *Biomed Res Int* 2018: 1096079. doi: 10.1155/2018/1096079
 30. *Zacour M, Ward BJ, Brewer A, Tang P, Boivin G, Li Y, Warhuus M, et al*. 2016. Standardization of hemagglutination inhibition assay for influenza serology allows for high reproducibility between laboratories. *Clin Vaccine Immunol* 23: 236-242. doi: 10.1128/CVI.00613-15
 31. *Zimmerman J, Karriker L, Ramirez A, Schwartz K, Stevenson G, Zhang J*. 2019. Diseases of Swine. 11th ed. USA: Willey Blackwell. 576 p.