

**UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA**  
Facultad de Ciencias y Humanidades



**PREVALENCIA VIROLÓGICA Y SEROLÓGICA DE  
VIRUS DE INFLUENZA A EN POBLACIONES DE  
CERDOS DE DOS DEPARTAMENTOS DE  
GUATEMALA, 2012**

Trabajo de investigación presentado por  
María Luisa Müller Theissen  
para optar al grado de Maestría en Epidemiología de Campo

Guatemala  
2014



**PREVALENCIA VIROLÓGICA Y SEROLÓGICA DE VIRUS  
DE INFLUENZA A EN POBLACIONES DE CERDOS DE DOS  
DEPARTAMENTOS DE GUATEMALA, 2012**

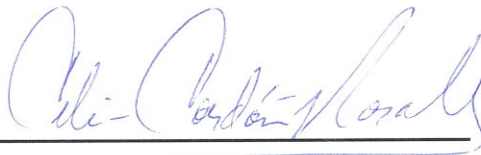
**UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA**  
Facultad de Ciencias y Humanidades

**PREVALENCIA VIROLÓGICA Y SEROLÓGICA DE VIRUS  
DE INFLUENZA A EN POBLACIONES DE CERDOS DE DOS  
DEPARTAMENTOS DE GUATEMALA, 2012**

Trabajo de investigación presentado por  
María Luisa Müller Theissen  
para optar al grado de maestría en epidemiología de campo

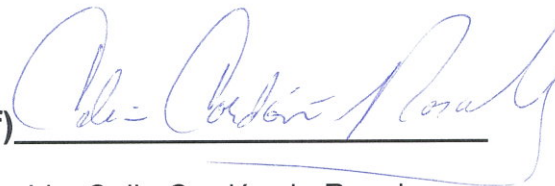
Guatemala  
2014

**Vo.Bo.:**

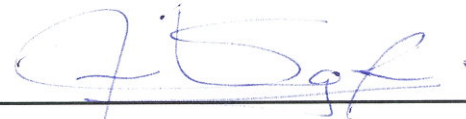
(f) 

Lic. Celia Cordón de Rosales

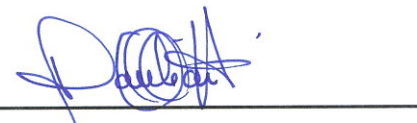
**Tribunal examinador:**

(f) 

Lic. Celia Cordón de Rosales

(f) 

Lic. Ana Silvia González

(f) 

Dr. Danilo Álvarez

Fecha de Aprobación: Guatemala 11 de noviembre de 2014

## **AGRADECIMIENTOS**

Epidemiólogos veterinarios oficiales y técnicos del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA), dueños de cerdos de Santa Rosa y Quetzaltenango, Dr. Danilo Alvarez, Lic. Celia Cordón, Dr. Miguel Descalzo, MSc. Anaité Díaz, Lic. Ana Silvia González, Lic. Oscar de León, Dr. John McCracken, MSc. Lucía Ortiz, Sr. Jorge Paniagua, Lic. Silvia Sosa, MSc. Ana Lucía Ramírez, Sra. Silvia Ramírez, Sra. Carmen Yoc (CES-UVG); Dr. Sergio Herrera, Dr. Pablo Ola, Dr. David Orellana (MAGA); Dr. Daniel Pérez (Universidad de Maryland).

Los fondos para este proyecto provienen del contrato de colaboración NIAID No. HHSN266200700010C entre la Universidad del Valle de Guatemala y la Universidad de Maryland, Centro de Excelencia para la Investigación y Vigilancia de Influenza. Personal técnico del MAGA estuvo a cargo del trabajo de campo, incluyendo toma de muestra y recolección de datos. Esta última institución además colaboró con algunos de los costos asociados al trabajo de campo, incluyendo envío de material y muestras, y mano de obra.

## CONTENIDO

LISTADO DE TABLAS.....	vi
LISTADO DE FIGURAS .....	vi
RESUMEN .....	vii
ABSTRACT.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES .....	2
A. Historia natural de los virus de influenza.....	2
B. Biología molecular .....	2
C. Infección por virus de influenza.....	3
D. Influenza animal en Guatemala.....	4
E. Influenza porcina.....	4
F. Influenza porcina en Guatemala.....	6
G. Demografía y crianza de porcinos en Guatemala.....	7
III. JUSTIFICACIÓN .....	9
IV. OBJETIVOS .....	10
A. Objetivo general .....	10
B. Objetivos específicos .....	10
V. HIPÓTESIS DE TRABAJO .....	11
VI. MÉTODOS.....	12
A. La población estudiada.....	12
B. Definiciones de caso.....	13
C. Criterios de inclusión y exclusión.....	13
D. Muestreo.....	14
E. Toma y análisis de muestras biológicas.....	15
F. Consentimiento.....	16
G. Variables.....	16
H. Análisis y manejo de datos.....	17
1. Prevalencia .....	17

2.	Comparación de dos muestras independientes .....	18
3.	Asociaciones.....	19
VII.	RESULTADOS .....	21
VIII.	DISCUSIÓN.....	32
IX.	CONCLUSIONES.....	36
X.	RECOMENDACIONES .....	37
XI.	LITERATURA CITADA .....	38
XII.	APÉNDICES .....	45

### **LISTADO DE TABLAS**

Tabla 1.	Características demográficas de los departamentos estudiados .....	13
Tabla 2.	Número de cerdos muestreados por departamento, Guatemala 2012 .....	22
Tabla 3.	Características de las granjas muestreadas por departamento, Guatemala 2012 .....	25
Tabla 4.	Características de los individuos muestreados por departamento, variables categóricas, Guatemala 2012 .....	26
Tabla 5.	Características generales de los individuos muestreados por departamento, variables continuas, Guatemala 2012 .....	28
Tabla 6.	a) Prevalencia estimada de virus de influenza A y de anticuerpos en poblaciones porcinas, y b) estadísticos de la muestra; Santa Rosa y Quetzaltenango, Guatemala, 2012 .....	28
Tabla 7.	Asociación entre características de los cerdos y la infección por influenza A en Santa Rosa y Quetzaltenango, Guatemala, 2012 (análisis bivariado).....	29
Tabla 8.	Asociación entre características de los cerdos y la infección por influenza A en Santa Rosa y Quetzaltenango, Guatemala, 2012 (análisis multivariado) .....	31

### **LISTADO DE FIGURAS**

Figura 1.	Localización de los departamentos de estudio, Guatemala .....	12
Figura 2.	Localización de las granjas muestreadas por departamento, Guatemala 2012.....	25



## RESUMEN

**Antecedentes:** Los virus de influenza A en poblaciones porcinas son un objeto importante de estudio debido a su potencial impacto en la producción de cerdos y como enfermedad zoonótica. Los esfuerzos de vigilancia en Guatemala son limitados.

**Métodos:** Se realizó un estudio transversal para estimar la prevalencia virológica y serológica en poblaciones de cerdos en dos departamentos Guatemala (Santa Rosa y Quetzaltenango) en 2012. Se tomó un hisopado nasal y una muestra de sangre de cada animal. Los hisopados fueron analizados por ensayos de RT-PCR dirigidos al gen de la matriz de influenza A. La presencia de anticuerpos contra influenza A en el suero fue analizada usando un ensayo ELISA competitivo comercial. Se investigó la asociación (razón de riesgo de prevalencia [RRP] con intervalos de confianza del 95% [IC 95%]) entre diferentes características y la infección viral, incluyendo sexo, edad, densidad, tipo de granja, presencia y reporte de otros cerdos con signos de infección respiratoria en la misma granja en el último mes, y presencia de aves de corral en la misma granja.

**Resultados:** Se tomaron muestras de 200 cerdos en cada departamento. De éstos, 293 (73%) machos, 326 (82%) entre 2-6 meses de edad, 319 (80%) de traspatio. En total 400 muestras de hisopado y 399 de suero fueron procesadas. Se estimó una prevalencia virológica de 19% (IC 95%: 14% – 23%) en cerdos de Santa Rosa y de 14% (IC 95%: 12% – 16%) en cerdos de Quetzaltenango. También se estimó una prevalencia serológica de 9% (IC 95%: 7% – 11%) en cerdos de Quetzaltenango. No se detectaron anticuerpos en las muestras de Santa Rosa. Ninguno de los cerdos positivos presentó signos respiratorios al momento del muestreo o pertenecía a granjas donde se reportaron cerdos con signos en el último mes. Los cerdos más jóvenes y los que eran criados con aves domésticas parecen estar asociados a un mayor riesgo de presentar infección por influenza A, pero estas asociaciones no fueron estadísticamente significativas.

**Conclusiones:** Aunque los resultados se encuentran limitados por los datos disponibles para algunas variables y el conocimiento del tiempo de exposición, las asociaciones al borde observadas deben ser investigadas más a fondo. Con esta información se espera comprender mejor la circulación de virus de influenza A en cerdos de Guatemala y apoyar el desarrollo de sistemas de vigilancia a largo plazo e hipótesis que puedan ayudar a caracterizar mejor la circulación viral en un área geográfica donde la información de influenza permanece limitada.

## ABSTRACT

**Background:** Swine influenza A viruses are important due to their potential impact in swine production and as a zoonotic disease. Surveillance efforts in Guatemala are limited.

**Methods:** A cross-sectional study was carried out to estimate the viral and serological prevalence of influenza A in swine in two municipalities in Guatemala (Santa Rosa and Quetzaltenango) in 2012. One nasal swab and one serum sample were taken from each animal. Swabs were tested by RT-PCR assays using primers directed to the influenza A matrix gene. The presence of antibodies against influenza A in serum was tested using a commercial competitive ELISA assay. We investigated associations (prevalence risk ratio [PRR] with 95% confidence intervals [95% CI]) between different characteristics and viral infection, including sex, age, density, farm type, presence and report of other swine with respiratory infection signs in the same farm during the last month, and presence of poultry in the same farm.

**Results:** Two hundred swine were sampled in each municipality; 293 (73%) male, 326 (82%) 2- 6 months old, 319 (80%) from smallholdings. A total 400 nasal samples and 399 serum samples were processed. The estimated viral prevalence in swine in Santa Rosa was 19% (95% IC 95: 14% – 23%), and 14% (IC 95%: 12% – 16%) in Quetzaltenango, and the serological prevalence was 9% (IC 95%: 7% – 11%) in Quetzaltenango. No antibodies were detected in samples from Santa Rosa. None of the positive swine presented respiratory signs at the time of sampling or were from farms that reported swine with signs during the previous month. Younger swine, and those farmed with domestic waterfowl may have higher risk of being infected with influenza A, but these associations were not statistically significant.

**Conclusions:** Although results are limited by data available for some variables and knowledge of the time of exposure, the observed borderline associations should be further investigated. These results will help to better understand the circulation of influenza A viruses in Guatemala and support the development of a long term surveillance and hypotheses that could help characterize viral circulation in a geographical area where information for influenza remains very limited.

## **I. INTRODUCCIÓN**

Los virus de influenza A en poblaciones porcinas son un objeto importante de estudio debido a su potencial impacto en la producción de cerdos y como enfermedad zoonótica. Ya que los esfuerzos de vigilancia en Guatemala son limitados, este trabajo busca comprender mejor la circulación de virus de influenza A en cerdos de Guatemala y apoyar el desarrollo de sistemas de vigilancia a largo plazo e hipótesis que puedan ayudar a caracterizar mejor la circulación viral en un área geográfica donde la información de influenza permanece limitada.

## II. ANTECEDENTES

### A. Historia natural de los virus de influenza

Los virus de influenza A infectan una variedad de especies, incluyendo humanos, cerdos, caballos, perros, mamíferos marinos y aves. Las aves acuáticas silvestres son reconocidas como un reservorio natural importante de los virus de influenza que se encuentran en otras especies de aves y mamíferos (Kim, Negovetich, Forrest, & Webster 2009; Webster, Bean, Gorman, Chambers, & Kawaoka 1992). Los virus de influenza son divididos en subtipos en base a dos proteínas en la superficie: hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA). A la fecha se han descrito 18 subtipos de HA y 11 de NA diferentes. De éstos, 16 se han descrito en aves silvestres acuáticas (Fouchier *et al.* 2005; Webster *et al.* 1992). Los subtipos H17N10 y H18N11 se han descrito recientemente en murciélagos (Tong *et al.* 2012; Tong *et al.* 2013). Actualmente, solamente dos subtipos, H1N1 y H3N2, circulan generalmente en humanos (CDC 2012a) y tres generalmente en poblaciones porcinas, H1N1, H1N2 y H3N2 (Brown 2000).

### B. Biología molecular

Los virus de influenza A pertenecen a la familia *Orthomyxoviridae*. Miden 80 a 120 nm de diámetro y son de forma aproximadamente esférica. Consisten de una bicapa de lípidos en la que se encuentran incrustadas las proteínas HA, NA y M2, una capa interna de proteína de la matriz y en el centro, las nucleocápsides del genoma viral. El genoma de los virus de influenza A consiste de ocho segmentos de ARN de hebra simple de polaridad negativa. Para ser infecciosa, una partícula de virus debe contener cada uno de estos segmentos. Cuando una célula es infectada por dos virus de genomas diferentes, La incorporación de los segmentos genómicos a los viriones de manera parcialmente aleatoria permite la generación de progenie que contienen nuevas combinaciones de genes (*i.e.* reagrupación genética) (Bouvier & Palese 2008; Webster *et al.* 1992).

Los ocho segmentos virales de ARN de influenza A codifican varios productos genéticos. Estos productos incluyen las subunidades de polimerasa PB1, PB2, PA y PA-X; las proteínas HA, NA, nucleoproteína (NP); las proteínas de la matriz M1 y M2; y las proteínas no estructurales NS1 y NS2 (Muramoto, Noda, Kawakami, Akkina, & Kawaoka 2013; Webster *et al.* 1992). La

HA es el principal antígeno superficial del virión. Es responsable de unir los viriones a los receptores de las células hospederas y de la fusión entre la cobertura del virión y la célula hospedera. La NA es el segundo principal antígeno del virión; esta proteína tiene una función en la liberación las nuevas partículas de virus de la célula, facilitando la dispersión viral (Bouvier & Palese 2008; Webster *et al.* 1992).

Los virus de influenza aviar se unen a los residuos de ácido siálico (AS)  $\alpha 2,3$ , mientras que los virus de influenza humana se unen a los residuos AS  $\alpha 2,6$ . Por una serie de cambios de aminoácidos en HA, los virus de influenza aviar pueden cambiar su especificidad y reconocer células con AS  $\alpha 2,6$ . La tráquea de los cerdos tiene tanto receptores AS  $\alpha 2,3$  como  $\alpha 2,6$  por lo que puede infectarse con virus tanto aviares como humanos y facilitar la reagrupación del genoma viral (Ma, Kahn, & Richt 2008). Además de los cerdos, se ha encontrado que algunas especies de aves de corral tienen tanto AS  $\alpha 2,3$  como  $\alpha 2,6$  en el tracto respiratorio e intestinos (Kimble, Nieto, & Perez 2010).

### **C. Infección por virus de influenza**

En las aves reservorio, los virus de influenza se replican preferentemente en el intestino, no causan signos clínicos y son excretados en las heces (Webster *et al.* 1992). Sin embargo, algunas cepas de alta patogenicidad H5N1 se replican preferentemente en el tracto respiratorio (Keawcharoen *et al.* 2008). Con base en sus características clínicas y moleculares, los virus de influenza aviar pueden ser divididos en los altamente virulentos que causan enfermedad altamente patogénica en aves de corral (algunas cepas de los subtipos H5, H7 y H9) y aquellos de baja patogenicidad que causan enfermedad más leve (Alexander 2000; Brown 2000; CDC 2012a). Los virus H9 son diferentes de los H5 y H7 en que no presentan el sitio de corte polibásico característico de los otros de alta patogenicidad incluyen cepas de los subtipos H5 y H7 (Tse, Hamilton, Friling, & Whittaker 2014).

En los mamíferos, los virus de influenza se replican principalmente en el tracto respiratorio y debido a esto son transmitidos principalmente por aerosoles y por contacto directo o indirecto con descargas nasales (Brown 2000; Dvorak, Rovid-Spickler, & Roth 2008). Sin embargo, existen diferencias en cuanto al tropismo hacia los tejidos respiratorio e intestinal en diferentes mamíferos, los cuales parecen estar determinados por factores tanto del virus como del hospedero (Kawaoka, Bordwell, & Webster 1987).

#### **D. Influenza animal en Guatemala**

El primer reporte de influenza A en animales en Guatemala se realizó en el año 2000 con el aislamiento de virus H5N2 de baja patogenicidad de aves de corral (Senne 2003). En este año, se creó en el país el programa para el control y erradicación de influenza aviar a cargo del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA) y en 2003 el Programa Nacional de Sanidad Avícola (PROSA), que tiene entre sus funciones la vigilancia, diagnóstico y control de influenza aviar (MAGA 2000, 2003a).

Adicionalmente a la vigilancia de influenza en aves de corral, desde 2010 en el país se han llevado estudios para determinar la presencia de virus de influenza en aves silvestres. En éstos, se ha detectado virus de influenza en patos migratorios de la especie *Anas discors* (cerceta aliazul) de la costa del Pacífico. Los virus identificados incluyen los subtipos H7N9, H11N2, H3N8, H5N3 H8N4 y H5N4; el análisis filogenético ha mostrado que los virus encontrados son similares a virus de Norteamérica (Gonzalez-Reiche *et al.* 2012). Además, estudios locales realizados en murciélagos han detectado influenza A en la especie frugívora *Sturnira lilium* (Tong *et al.* 2012).

#### **E. Influenza porcina**

La infección aguda clínica de influenza en los cerdos típicamente está caracterizada por un periodo de incubación corto (uno a tres días) después del cual los animales se presentan anoréxicos, inactivos y tienen la tendencia a acurrucarse unos contra otros debido a la presencia de fiebre (de 40.5 a 41.7 °C). Además pueden observarse respiración abdominal con la boca abierta, paroxismos de tos, estornudos, conjuntivitis y descarga nasal u ocular (CDC 2012b; FAO 2010).

Se ha descrito que, a nivel macroscópico, los pulmones de los cerdos infectados con virus de influenza A muestran consolidaciones multifocales a coalescentes, de color rojo púrpura, predominantemente en las porciones cranioventrales. Los cambios microscópicos en los pulmones incluyen necrosis de las células epiteliales bronquiales, infiltración peribronquial linfocitaria y neumonía intersticial de severidad variable. Los virus de influenza son parte del complejo respiratorio porcino y actúan conjuntamente con bacterias y otros virus patógenos (Vincent, Ma, Lager, Janke, & Richt 2008).

En las infecciones por influenza en cerdos, la morbilidad alcanza rápidamente cerca de 100% de la población susceptible pero la mortalidad es baja y usualmente no excede el 1%. La mayor parte de los animales se recuperan cinco a siete días luego del inicio de signos. La recuperación de virus de hisopados nasales en condiciones experimentales ha sido exitosa hasta 29 días luego de la infección (FAO 2010; Vannier, Gourreau, & Kaiser 1985).

En piaras grandes la infección por virus de influenza se vuelve endémica y el cuadro clínico cambia en el tiempo para ser menos aparente o subclínico. Esto se debe a que el virus es mantenido en la población en animales jóvenes susceptibles mantenidos como parte del ciclo de producción y la introducción de nuevos animales (Brown 2000; FAO 2010). Debido a la reducción en la ingesta de alimentos durante la infección, el principal impacto económico es un retardo en la ganancia de peso y por lo tanto en el tiempo hasta alcanzar el peso de mercado. En algunos casos las infecciones se han asociado a abortos y las infecciones bacterianas secundarias pueden agravar la enfermedad (OIE 2010).

Los virus de influenza porcina comúnmente no infectan humanos, pero han ocurrido infecciones. Ya que los cerdos son susceptibles a infectarse tanto con virus aviares como humanos, es posible la generación de virus nuevos por reagrupación de segmentos del genoma viral que pueden resultar en nuevas cepas con la capacidad adquirida para dispersarse en poblaciones humanas (Brown 2000; Ma *et al.* 2008). Adicionalmente, existe evidencia de varios eventos de introducción de virus de humanos a cerdos, lo que aumenta la diversidad genética y provee oportunidades de reagrupación genética (Nelson, Gramer, Vincent, & Holmes 2012).

Existen diferentes subtipos y cepas de virus de influenza porcina. Los subtipos H1N1, H1N2 y H3N2 circulan en cerdos de manera enzoótica a nivel mundial. Estos incluyen virus clásicos porcinos, similares a virus aviares y similares a virus humanos (Brown 2000). Se conoce que los virus H1N1 porcinos circulan en las poblaciones de cerdos de Estados Unidos desde al menos 1930 y los H3N2 empezaron a circular hasta 1998. Los virus H3N2 fueron introducidos inicialmente a las poblaciones porcinas por humanos, aunque ahora son diferentes de los virus H3N2 estacionales que circulan en humanos. Actualmente en estas poblaciones de cerdos se han identificado varios virus con reagrupaciones incluyendo H1N2, H3N2 y H3N1 (CDC 2012b; Vincent *et al.* 2008).

En los Estados Unidos se han reportado infecciones humanas con variantes del virus de los subtipos porcinos H1N1, H3N2 y H1N2 (CDC 2012b). Desde finales de 2005, en este país se han reportado 348 infecciones en humanos con estas variantes del virus en 17 diferentes estados del país (312 de ellas de julio a diciembre 2012). De éstas, 329 (95%) han sido H3N2, 14 (4%) H1N1 y 5 (1%) H1N2. La mayor parte de infecciones han ocurrido en niños (18 años o menos) y la mayoría han reportado exposición directa o indirecta a cerdos (*e.g.* niños en ferias o trabajadores de la industria porcina). Se ha observado transmisión limitada por contacto cercano entre humanos, pero no se ha documentado transmisión sostenida (CDC 2013a, 2013b).

En abril de 2009 en los Estados Unidos se identificó un virus H1N1 en humanos con una combinación única de segmentos de cepas porcinas de Norteamérica y Eurasia que ha continuado circulando en humanos y se ha dispersado a nivel mundial. Del 30 de agosto al 31 de octubre, la actividad de influenza A y tasas de hospitalización alcanzaron niveles históricos en este país, y 99.9% de los casos de influenza fueron identificados como influenza A(H1N1)pdm09 (CDC 2009). Se ha encontrado que este virus se originó de varios eventos de reorganización entre virus que habían estado circulando en cerdos con una amplia distribución geográfica antes de ser detectados en humanos (Garten *et al.* 2009; Smith *et al.* 2009). Antigénicamente, estos virus son homogéneos y similares a los virus porcinos de Norteamérica H1N1, pero diferentes a los H1N1 humanos estacionales (Garten *et al.* 2009). En Guatemala, el subtipo A(H1N1)pdm09 fue detectado el mismo año en poblaciones humanas y actualmente constituye cerca del 50% de los casos captados en sitios de vigilancia de hospitales y centros ambulatorios (CES 2014; Reyes *et al.* 2010).

## **F. Influenza porcina en Guatemala**

La influenza porcina no es una enfermedad de notificación obligatoria (OIE 2014). Aunque existe información de la circulación de virus de influenza en poblaciones porcinas de Guatemala, no existe un programa nacional para la vigilancia de influenza en cerdos. Además, aunque existen vacunas disponibles comercialmente para reducir el impacto económico de la infección por algunas cepas y posiblemente el riesgo de exposición para las personas en contacto con cerdos (OIE 2010), su uso aún no se encuentra autorizado en el país (D. Orellana, com. pers.; Sanidad Animal, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación. Noviembre 2014).



En 2009, la pandemia de virus de influenza A(H1N1)pdm09 evidenció la falta de vigilancia local de virus de influenza en poblaciones porcinas. A raíz de esto, se condujeron las primeras investigaciones para conocer la presencia de virus en estas poblaciones. Dos estudios transversales realizados a nivel nacional en 2010 y 2011 encontraron en promedio 14% de cerdos positivos a virus de influenza A por ensayos moleculares y 6% de cerdos con exposición previa por pruebas serológicas (10% y 32% de las granjas, respectivamente). En estos estudios se obtuvieron los primeros aislados virales del país del subtipo pandémico H1N1 2009 y el subtipo H3N2, con lo que se confirmó la circulación de estos virus en cerdos locales (Gonzalez-Reiche *et al.*, no publicado). Con base en el análisis espacial de las granjas positivas a virus de influenza A, se observaron dos agrupaciones durante 2010 en el occidente y nororiente del país, y una agrupación en 2011 en el área central y sur (Ramirez 2012).

En 2010 también se realizó otro monitoreo serológico a nivel nacional de circulación de virus H1 y H3. En éste se encontró evidencia indirecta de circulación de los subtipos H1 y H3, encontrándose una seropositividad de 20% H1 y 7% H3 en granjas tecnificadas, y de 41% H1 y 17% H3 en granjas de traspatio (Serrano, Veliz, & Motta 2011).

## **G. Demografía y crianza de porcinos en Guatemala**

De acuerdo a los estimados de la encuesta nacional agropecuaria de 2007, la población porcina en Guatemala es de cerca de 1.6 millones de individuos (INE 2007). Además del cerdo criollo, las razas más utilizadas en la producción nacional son Landrace, Yorkshire, Duroc, Hampshire y en menor medida, Poland china (MAGA 2003b).

En el país existen tres tipos principales de granjas de producción de cerdos: de traspatio, semitecnificadas y el tecnificadas. Los cerdos de traspatio, de tipo criollo, son mantenidos en sistemas de producción rústicos de bajo costo, bajos controles sanitarios, y producción destinada al mercado local. Se realizan inversiones únicamente en pie de cría y la base de la alimentación son productos locales. Es una actividad complementaria de ingresos en el hogar, principalmente a cargo de la mujer (MAGA 2003b). Se estima que las producciones de traspatio representan el 94% de las explotaciones a nivel nacional (FAO 2009). Las granjas semitecnificadas y tecnificadas (denominadas en este trabajo de manera conjunta como “granjas comerciales”) representan diferentes niveles de manejo e ingresos. Los cerdos producidos aquí tienen controles sanitarios y zootécnicos, son alimentados con concentrado, cuentan con instalaciones apropiadas,

se comercializan según contratos establecidos con plantas industriales o son parte de empresas que manejan la cadena desde la producción hasta la industrialización (MAGA 2003b).

### III. JUSTIFICACIÓN

Debido a su importancia en la producción porcina y a su potencial zoonótico, es importante caracterizar y vigilar la circulación de virus de influenza A en las poblaciones porcinas. La pandemia de influenza A (H1N1) de 2009 ha ayudado a mostrar la importancia de la influenza como causa de morbilidad y mortalidad en países tropicales en desarrollo, y aunque se lleva a cabo vigilancia en humanos (Lindblade *et al.* 2010; Reyes *et al.* 2010), aún existen insuficientes datos en otros hospederos.

Esta investigación es una continuación del trabajo comenzado en 2010 y se enfoca en dos departamentos del país: Santa Rosa y Quetzaltenango. Es un estudio piloto que permitirá establecer las bases para estudios a largo plazo en ambos lugares. Estos dos departamentos se encuentran dentro de áreas que mostraron tener agrupaciones de granjas positivas durante 2010-2011 (Ramirez 2012). Este trabajo es el primero dirigido tanto a estimar la prevalencia en estos departamentos como a evaluar asociaciones entre diferentes características y la infección por virus de influenza A.

Ambos departamentos cuentan con datos de circulación y sistemas de vigilancia de influenza A en humanos, incluyendo los subtipos H1, H1pdm09 y H3 (Lindblade *et al.* 2010; Reyes *et al.* 2010). Esto facilitará, en una segunda etapa, la comparación de subtipos circulantes entre las diferentes poblaciones y, a largo plazo, la unión de sistemas de vigilancia humanos y animales de manera integral.

## **IV. OBJETIVOS**

### **A. Objetivo general**

Conocer mejor la circulación de influenza A en las poblaciones de cerdos bajo estudio que pueda ser utilizada como base para el desarrollo de estrategias de vigilancia, prevención y control.

### **B. Objetivos específicos**

1. Estimar la prevalencia virológica de influenza A en una población de cerdos de Santa Rosa y Quetzaltenango, Guatemala.
2. Estimar la prevalencia serológica de anticuerpos contra virus de influenza A en estas poblaciones.
3. Investigar características asociadas a la infección con virus de influenza A en estas poblaciones de cerdos.

## V. HIPÓTESIS DE TRABAJO

En este estudio se buscará responder las siguientes preguntas principales:

- A.** ¿Cuál es la prevalencia virológica de influenza A en los cerdos bajo estudio?
- B.** ¿Cuál es la prevalencia serológica de anticuerpos contra influenza A en los cerdos bajo estudio?
- C.** ¿Existe diferencia entre la prevalencia virológica de los cerdos de Santa Rosa y Quetzaltenango?
- D.** ¿Existe diferencia entre la prevalencia serológica de los cerdos de Santa Rosa y Quetzaltenango?
- E.** ¿Existe asociación entre algunas características de los cerdos y la infección por influenza A? Las características evaluadas incluyen sexo, edad, tipo de producción y localidad del animal; también presencia o reporte de cerdos con signos respiratorios y presencia de aves en la misma granja.

Las hipótesis estadísticas evaluadas se muestran en la sección de métodos.

## VI. MÉTODOS

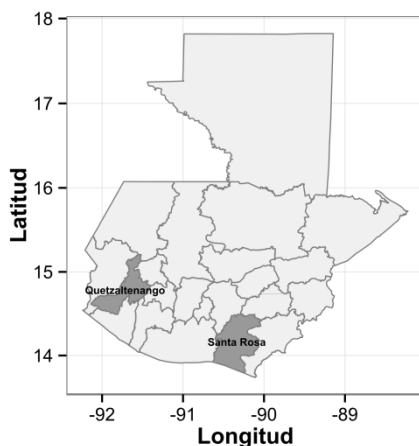
Se realizó un estudio transversal, que por definición es un estudio observacional (Levin 2006). El objetivo principal fue describir la infección y exposición por/a virus de influenza A en una muestra de cerdos. En la primera fase se describieron las características de la muestra. En la segunda fase se analizó, de manera exploratoria, la asociación entre diferentes características de los animales muestreados y la infección por virus de influenza A.

### A. La población estudiada

La población de estudio fueron cerdos domésticos (*Sus scrofa domesticus*) en crecimiento de granjas comerciales y de traspatio de Santa Rosa y Quetzaltenango, Guatemala. La localización geográfica y las características demográficas de ambos departamentos se muestran en la **Figura 1** y **Tabla 1**, respectivamente.

Para el año 2007 la población de cerdos se estimó en 16,334 cabezas en Santa Rosa (1% de la producción nacional) y 71,783 en Quetzaltenango (6% de la producción nacional) (INE 2007). Aunque las poblaciones no son estáticas, se estima que 22% de la producción en Santa Rosa y 73% en Quetzaltenango se realiza en piaras de menos de cuatro individuos (INE & MAGA 2005), probablemente como explotaciones familiares en el traspatio.

**Figura 1. Localización de los departamentos de estudio, Guatemala**



**Tabla 1. Características demográficas de los departamentos estudiados**

Característica	Departamento	
	Santa Rosa	Quetzaltenango
<b>Generales</b>		
Divisiones administrativas ( <i>municipios, n</i> )	14	24
Distancia ( <i>km</i> )	55	220
Dirección de la Ciudad de Guatemala	Sur	Occidente
Elevación media ( <i>m snm</i> )	730	1,575
Área superficial ( <i>km<sup>2</sup></i> )	3,164	2,133
<b>Población humana</b>		
Habitantes ( <i>n</i> )	353,261	807,571
Densidad ( <i>habitantes/km<sup>2</sup></i> )	109	370
Pobreza ( <i>% habitantes</i> )	63	51
Pobreza extrema ( <i>% habitantes</i> )	19	11
Urbanidad ( <i>% habitantes</i> )	35	55
Indígenas ( <i>% habitantes</i> )	3	54
<b>Población de cerdos</b>		
Animales ( <i>n</i> )	16,334	71,783
Piaras de menos de cuatro individuos (%)	22	73

(INE 2002, 2006, 2007; SEGEPLAN, INE, &amp; URL 2004)

Población estimada para 2012. Pobreza, urbanidad y etnia estimadas para 2002. Población porcina estimada para 2007.

## B. Definiciones de caso

Se definió un animal con infección por virus de influenza A como aquél positivo por medio de ensayos de reacción en cadena de la polimerasa de transcriptasa reversa (RT-PCR) en tiempo real. Un animal con infección previa (*i. e.* con anticuerpos contra influenza A debido a una exposición previa) positivo por medio del ensayo ELISA de bloqueo.

## C. Criterios de inclusión y exclusión

Se tomaron en cuenta lechones o cerdos en engorde entre dos a ocho meses de edad aproximadamente, que corresponde al periodo de engorde de un animal destinado al consumo. No obstante, también se tomaron muestras de cerdos de otras edades para alcanzar el número de muestras. En la mayor parte de casos no se incluyeron individuos menores a dos meses ni

reproductores, por el miedo de los granjeros a dejar manipular animales que son más valiosos para ellos.

#### **D. Muestreo**

El presente es un estudio transversal. Para estimar el tamaño de muestra se utilizó la fórmula para poblaciones finitas (Sullivan 2010). No se incluyó un factor por efecto de diseño ( $ED = 1$ ), por razones de costo (**Apéndice 1**). Cuando la proporción de la población muestreada es grande (mayor de 5%), el uso del factor de corrección para poblaciones finitas disminuye el estimado de la varianza y a su vez el intervalo de confianza. El estimado del ED usualmente se toma de encuestas del mismo tamaño realizadas anteriormente en el área o de la experiencia en otras áreas (Sullivan 2010).

Se calculó una muestra de manera independiente para cada departamento. Las poblaciones de cerdos usadas fueron las de la encuesta agropecuaria de 2007 (INE 2007). Se estimó un tamaño de muestra de 219 individuos para Santa Rosa y 205 para Quetzaltenango, necesarios para encontrar una prevalencia ( $p$ ) de 14% ( $\pm 5\%$  precisión). La prevalencia esperada se obtuvo del promedio de muestras positivas a virus de influenza A obtenidas a nivel nacional en 2010 y 2011 (González-Reiche *et al.* no publicado). Aunque el promedio de muestras serológicas positivas en 2010 y 2011 fue menor, se utilizó el mismo valor para la prevalencia virológica y serológica esperada debido a restricciones en el número total de muestras a coleccionar (pues para una prevalencia y precisión absoluta menores se debería coleccionar una muestra de mayor tamaño).

Las muestras se asignaron por municipio en cada departamento utilizando un muestreo por conglomerados de pesos iguales con probabilidad proporcional al tamaño (PPT). En éste, la población es dividida en grupos exclusivos, llamados también unidades primarias de muestreo (UPM). Las UPM fueron los municipios. Los elementos son individuos dentro de las granjas. El muestreo por conglomerados frecuentemente se usa porque no existe un listado de todos los individuos elegibles, y por lo tanto no puede realizarse un muestreo simple aleatorio (MSA) y tienden a ser más eficientes logísticamente. Con el método PPT, la probabilidad de selección de una UPM es proporcional al tamaño de su población, *i. e.* las UPMs más grandes tienen mayor probabilidad de ser seleccionadas que las pequeñas (Rothman 2002). No obstante, todos los individuos en la población tienen la misma probabilidad de ser seleccionados, puesto que al seleccionar un número constante de individuos por conglomerado, aquellos dentro de UPMs de



mayor tamaño tienen menor probabilidad de ser seleccionados, por lo que ambos pasos se compensan (Bierrenbach 2008).

Se definieron por conveniencia 15 conglomerados en Santa Rosa y 25 en Quetzaltenango, y para cada departamento el total de individuos a muestrear se dividió equitativamente entre los conglomerados. Esto equivale a 13 individuos por conglomerado en Santa Rosa (con 3 conglomerados con 1 individuo adicional por redondeo de la división de los 200 individuos totales) y 8 en Quetzaltenango.

Para escoger los conglomerados se hizo un listado de las poblaciones por municipio siguiendo el orden del censo agropecuario 2003. Las poblaciones de cada departamento se aproximaron de acuerdo a la distribución porcentual reportada en el censo agropecuario de 2003 (INE & MAGA 2005), ya que la encuesta agropecuaria de 2007 no reporta poblaciones por municipio. Para cada departamento se calculó el intervalo de muestreo ( $k$ ) dividiendo la población total del departamento entre el número de conglomerados. Se obtuvo un número aleatorio de inicio utilizando el servicio en línea random.org, con el cual se asignó el primer conglomerado, y los conglomerados subsecuentes se escogieron de acuerdo al intervalo muestral.

### **E. Toma y análisis de muestras biológicas**

La toma de muestra de los animales fue realizada por médicos veterinarios y personal técnico del MAGA. De cada individuo se tomó un hisopado de la mucosa nasal usando un hisopo de dacrón estéril. El hisopo fue sumergido en medio de transporte viral, con antibióticos y antimicóticos, en un tubo de 15mL. Adicionalmente se colectó aproximadamente 2mL de sangre del seno venoso orbital en tubos Vacutainer de 5 o 10mL sin anticoagulante usando agujas no. 22 o 18 x 1 ½. El suero fue separado por centrifugación, en el campo o al recibir las muestras en el laboratorio. Todos los tubos con muestras fueron rotulados con un código único para cada animal. Las agujas y resto de desechos biopeligrosos fueron descartados en contenedores apropiados. Las muestras fueron conservadas a 4°C con hielo hasta ser llevadas al laboratorio. En el laboratorio, los hisopados fueron conservados a -70°C y las muestras de suero a -20°C hasta ser procesados.

Las muestras de hisopados fueron analizadas para buscar la presencia de material genético de virus de influenza A por medio de ensayos de RT-PCR en tiempo real utilizando cebadores específicos dirigidos al gen M (Slomka *et al.* 2010; Spackman *et al.* 2002). El ARN fue extraído

con el “kit” de aislamiento viral MagMAX-96 AI/ND (Ambion, Austin, USA) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Se utilizaron ensayos previamente validados con los “kits” QuantiTect Probe RT-PCR (QIAGEN, Hilden, Alemania). Adicionalmente, se buscaron anticuerpos contra influenza A en las muestras de suero por medio de la prueba serológica ELISA de bloqueo. Para esto se utilizó el ensayo comercial IDEXX Influenza A Ab test (IDEXX, Westbrook, USA), de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

## **F. Consentimiento**

El muestreo de cerdos fue realizado solamente con previo consentimiento verbal del dueño o la persona encargada del animal. El trabajo con cerdos fue revisado y aprobado por el comité de ética, uso y cuidado animal de la UVG.

## **G. Variables**

Se utilizó una boleta de campo (**Apéndice 3**) para recolectar datos de cada uno de los individuos muestreados en base a observaciones y entrevistas. Esta boleta fue modificada en base a revisiones de literatura y realimentación del análisis de datos y campo de los proyectos TCP/RLA 3206 OSRO/RLA/901/UA de FAO y las utilizadas en 2010 y 2011 para encuestas de influenza en cerdos de Guatemala (González-Reiche *et al.* no publicado).

Las variables independientes recolectadas de cada animal incluyen *localidad* (incluyendo coordenadas), *sexo*, *edad en meses*, *categoría de producción* (lechón, destetado, crecimiento, finalización, reproductor), *tipo de granja* (tecnificada, semitecnificada, traspatio), *presencia de signos respiratorios*, *crianza con otros cerdos en la granja que mostraron signos respiratorios al momento del muestreo y durante el último mes*, *densidad de cerdos en la granja*, y *crianza con pollos<sup>a</sup> y/o pavos*, o *de patos y/o gansos* en la granja. Las variables dependientes son la infección por virus de influenza A y exposición al virus (determinadas por el resultado de los ensayos de RT-PCR y ELISA, respectivamente). Cada boleta fue identificada con un código único idéntico al de las muestras biológicas del individuo.

---

<sup>a</sup> En este documento el término “pollo” se usa para referirse a un individuo de la especie *Gallus gallus domesticus*, independientemente de su sexo y edad.

Para definir el número de granjas visitadas se tomó como referencia el nombre del jefe de familia indicado en las boletas de campo. Si se encontraron inconsistencias en los datos de boletas de una misma granja este dato se dejó como “desconocido” (n/d; no hay datos).

## H. Análisis y manejo de datos

La información recopilada en las boletas de campo fue ingresada de manera independiente dos veces a una base de datos, y luego de revisar los datos en discrepancia de estas versiones se compiló una base de datos final. Todos los análisis se realizaron con el programa R versión 3.0.2 (base package stats y epiR) (R Development Core Team 2012; Stevenson *et al.* 2012).

Todas las coordenadas geográficas fueron transformadas de UTM a grados utilizando el sistema de coordenadas (*datum*) WGS84 (Dutch 2010). En caso de que este dato faltara, se revisó una referencia de la localidad indicada en la boleta en el Diccionario Geográfico Nacional (IGN 2000).

Para el análisis descriptivo y de asociación, todas las variables continuas fueron transformadas a categóricas. Para cada departamento, los cerdos muestreados se describieron de acuerdo a sexo, edad, categoría de producción, tipo de granja, presencia de signos respiratorios, presencia de otros cerdos con signos respiratorios al momento del muestreo, densidad de cerdos en la granja, presencia de pollos y/o pavos, y presencia de patos y/o gansos. Adicionalmente se realizó un mapa de las localidades de muestreo. Todos los análisis de asociación se realizaron a nivel de individuo.

**1. Prevalencia.** La prevalencia viral y la prevalencia serológica de influenza A se calcularon como la media de las proporciones de individuos positivos en cada municipio (prevalencia media [ $p$ ]; **Apéndice 1**). Adicionalmente se calculó la *varianza e intervalo de confianza al 95% (IC 95%)* de cada muestra (Sullivan 2010).

Para cada muestra se calcularon el *efecto de diseño (ED)* y el *coeficiente de correlación intraconglomerado (CCI)*. El ED es una medida de la variabilidad entre conglomerados y es calculado como la razón de la varianza calculada sumiendo un diseño muestral complejo dividido dentro de la varianza calculada asumiendo un muestreo aleatorio simple. En muchas circunstancias es mayor a 1, lo que indica que la varianza estimada asumiendo un muestreo por

conglomerados es mayor a la varianza asumiendo MSA. Sin embargo, ED también puede ser menor a uno. El ED es útil porque frecuentemente es utilizado para estimar el tamaño de muestra al planificar un estudio. Los tres factores más importantes que afectan el tamaño del ED son: 1) La variabilidad inherente de la proporción del factor de interés entre conglomerados; mientras más conglomerados difieran en la proporción con el atributo mayor será el ED. 2) El número de individuos muestreados en cada conglomerado; mientras más individuos se muestreen por conglomerado, será más grande el ED. 3) Dado muestras de igual tamaño, los estimados cercanos a 50% tienden a tener un ED de mayor tamaño que los estimados cercanos a los extremos (Sullivan 2010). El estimado del ED servirá para calcular de manera correcta el tamaño de muestra en próximos estudios por conglomerados similares al actual (Killip, Mahfoud, & Pearce 2004).

El CCI (también conocido como  $\rho$  ó *RHO*), es una medida de la relación entre las observaciones dentro de cada conglomerado. Compara la variancia dentro de los conglomerados con la varianza entre conglomerados (Killip *et al.* 2004). Puede ser calculado para un ED dado y un número promedio de individuos muestreados por cluster ( $\bar{n}$ ) (**Apéndice 1**). CCI no es afectado por el número promedio de observaciones por conglomerado, mientras que ED es fuertemente afectado (Sullivan 2010). Hipotéticamente, cuando CCI es igual a 1, todas las observaciones dentro de un conglomerado son idénticas. Un valor pequeño indica que la varianza dentro de los conglomerados es mayor a la varianza entre los conglomerados. Cuando CCI es igual a 0, no existe correlación entre las observaciones dentro de un conglomerado (Killip *et al.* 2004).

**2. Comparación de dos muestras independientes.** Para evaluar si las diferencias observadas entre las prevalencias estimadas de cada departamento son diferentes de las esperadas al azar se calculó la prueba no paramétrica *U* de Mann-Whitney (también conocida como prueba de Wilcoxon no emparejada). Esta prueba está indicada para muestras pequeñas (cuando alguno de los grupos de comparación tiene menos de 10 observaciones), no se puede asumir normalidad, o para cuando se tienen variables ordinales en lugar de cuantitativas. Sin embargo, tiene la desventaja de que se pierde potencia para detectar diferencias significativas y en principio no permite construir intervalos de confianza, aunque se han descrito métodos para hacerlo (Martinez, Sanchez, & Fajardo 2006). Esta prueba compara las medianas de ambas muestras luego de ordenar las observaciones de cada uno de mayor a menor. El estadístico *U* se calcula al hacer todas las comparaciones posibles entre cada observación de una muestra con la otra,

contabilizando el número de veces que una es mayor a la otra y los empates. Una vez calculado, es posible hacer un contraste de hipótesis [Moses 1992 en (Martinez *et al.* 2006)].

En este estudio, se evaluaron las siguientes hipótesis nulas,  $H_0$  (prueba de dos colas, con 95% de confiabilidad):

- a.  $H1_0$ : La prevalencia virológica en la muestra de cerdos de Santa Rosa es igual a la de Quetzaltenango (las distribuciones de ambas muestras no difieren).
- b.  $H2_0$ : La prevalencia serológica en la muestra de cerdos de Santa Rosa es igual a la de Quetzaltenango (las distribuciones de ambas muestras no difieren).

**3. Asociaciones.** Para cada departamento se estimó la asociación entre la infección por virus de influenza y las características del animal indicadas anteriormente. Para esto se calculó la *razón de riesgo de prevalencia (RRP)* como la razón entre el riesgo de infección entre todos los animales con determinada característica y los que no la tienen (Rothman 2002; Stevenson *et al.* 2012; Zocchetti, Consonni, & Bertazzi 1997) e IC 95%. RRP se interpreta como (CDC 2012c):

- a.  $RRP < 1$ : El riesgo de infección para los individuos con determinada característica es menor al riesgo de los que no la tienen. La característica parece reducir el riesgo de enfermedad.
- b.  $RRP = 1$ : El riesgo de infección para los individuos con determinada característica es el mismo que el riesgo de los que no la tienen. La característica no parece ser un factor de riesgo.
- c.  $RRP > 1$ : El riesgo de infección para los individuos con determinada característica es mayor al riesgo de los que no la tienen. La característica parece aumentar el riesgo de enfermedad.

El intervalo indica la confianza en el estimado RRP. Si todo el intervalo está por encima de 1, se concluye que el riesgo de la enfermedad es mayor entre el grupo con determinada característica de manera significativa en un nivel de 95%.

Aunque el objetivo principal de los estudios transversales es descriptivo, también son usados para buscar información etiológica, aunque tienen limitaciones. En estos estudios, el uso de la *RRP* (también conocida como *razón de prevalencia*, o *RP*) ha sido recomendado por sobre el uso de la razón de momios de prevalencia (*RMP*) para el análisis de riesgo de características o exposiciones comunes (*i.e.* mayores a 10%) y enfermedades agudas con periodos de seguimiento similares entre sujetos (Lee & Chia 1993). Su equivalente en estudios longitudinales (*i.e.* cohorte)

es la razón de riesgo (Lee 1994). Aunque a bajas (menores a 10%) prevalencias de la enfermedad los valores de RRP y RMP son muy similares, RPP presenta valores más lejos del valor nulo que RMP (Zocchetti *et al.* 1997).

Para todas las variables se calcularon primero los RRP e IC95% mediante un análisis bivariado, en el cual la prevalencia en los individuos con cada característica de referencia se comparó contra la de todos los individuos que no tenían esa característica. Posteriormente se realizó un análisis multivariado utilizando una regresión de Poisson (modelo lineal generalizado con distribución de Poisson y enlace log) con una varianza de error robusta para calcular los intervalos de confianza (Zou 2004). Las variables de interés se escogieron de aquellas identificadas durante el análisis bivariado, y las que fueran relevantes para ambos departamentos. El número máximo de parámetros que podían ser incluidos en el modelo se estimó con  $(m/10)-1$ , donde  $m$  es el menor del número de casos del evento (infección por influenza A) o su complemento;  $m = \min(n1, n0)$  (Morales-Betoulle *et al.* 2013).

## VII. RESULTADOS

El muestreo se realizó de mayo a octubre 2012, durante la época lluviosa. Por logística y disponibilidad de fondos, en cada departamento se tomaron muestras de 200 individuos. Adicionalmente, para simplificar la logística, en los departamentos con más de un conglomerado, no se realizó una división de los municipios para distribuir los conglomerados, por lo que se tomó cada municipio como un solo conglomerado. Los individuos dentro de cada conglomerado fueron seleccionados a conveniencia por personal del MAGA en base a referencias de habitantes locales. En cada granja con cerdos, epidemiólogos veterinarios del MAGA tomaron muestra de los animales disponibles y buscaron nuevas granjas hasta completar el total de individuos comprendidos por la suma de todos los conglomerados de ese municipio. Debido a esto para ambos departamentos se obtuvieron menos conglomerados y de diferentes tamaños a los esperados (9 en Santa Rosa y 16 en Quetzaltenango; **Tabla 2**). En el laboratorio se procesaron 400 hisopados y 399 muestras de suero, ya que una muestra de suero de Quetzaltenango no tenía suficiente volumen para los análisis.

Los individuos muestreados provenían de 104 granjas en Santa Rosa y 57 granjas en Quetzaltenango (**Figura 2**). Se muestrearon casi el doble de granjas en Santa Rosa que en Quetzaltenango y menos animales por granja. La mediana y medidas de dispersión de los individuos muestreados por granja se muestran en la **Tabla 3**.

**Tabla 2. Número de cerdos muestreados por departamento, Guatemala 2012**

Departamento					
Santa Rosa ( <i>n</i> = 200)			Quetzaltenango ( <i>n</i> = 200)		
No.	Municipio	Muestras, <i>n</i>	No.	Municipio	Muestras, <i>n</i>
1	Casillas	13	1	Cabricán	24
2	Chiquimulilla	13	2	Cajolá	8
3	Cuilapa	13	3	Cantel	8
4	Guazacapán	13	4	Coatepeque	16
5	Nueva Santa Rosa	13	5	El Palmar	8
6	Oratorio	13	6	Génova	8
7	Pueblo Nuevo Viñas	54	7	Huitán	8
8	Santa Cruz el Naranjo	13	8	Olintepeque	8
9	Taxisco	55	9	Palestina	8
			10	Quetzaltenango	8
			11	Salcajá	8
			12	San Carlos Sija	40
			13	San Martín Sacatepéquez	8
			14	San Miguel Siguilá	8
			15	Sibilia	8
			16	San Juan Ostuncalco	24

Cada municipio representa un conglomerado. No se procesó una muestra de suero de Coatepeque por tener insuficiente volumen (total 16 hisopados y 15 sueros).

Las características generales de los individuos muestreados por departamento para las variables categóricas se presentan en la **Tabla 4**. En términos generales, la mayor parte de muestras se colectaron de cerdos macho, juveniles, clasificados como lechones o en crecimiento, criados en traspatio y sin signos respiratorios. Sin embargo, existieron diferencias en las características de los animales muestreados en cada departamento. En Santa Rosa, se muestrearon cerdos juveniles, y adultos jóvenes, mientras que en Quetzaltenango solamente juveniles. La mayor parte de cerdos muestreados en Santa Rosa fueron cerdos en crecimiento, seguidos de reproductores, mientras que en Quetzaltenango la mayoría fueron lechones, seguidos de cerdos en crecimiento. En Santa Rosa casi la totalidad de los cerdos muestreados eran criados en el traspatio, mientras que en Quetzaltenango más de la mitad eran de traspatio, pero el resto eran de granjas semitecnificadas. Por último, en Santa Rosa solamente se muestrearon cerdos criados ya sea libres o a bajas densidades ( $< 1$  cerdo/m<sup>2</sup>), mientras que en Quetzaltenango se muestrearon aproximadamente el mismo número de cerdos en las diferentes categorías de densidad evaluadas,



con excepción de las categorías de  $\geq 3$  cerdos/m<sup>2</sup>, en las que se muestrearon menos individuos. En el resto de las variables las características de las muestras por departamento son similares.

Las características generales de los individuos muestreados por departamento para las variables continuas se presentan en la **Tabla 5**. La mediana del número total de cerdos con los que convivían los individuos muestreados de Quetzaltenango fue más del doble que en Santa Rosa. La mediana de la edad de los cerdos muestreados de Santa Rosa fue mayor que la de Quetzaltenango. Adicionalmente, Santa Rosa se muestrearon cerdos de hasta 16 meses, mientras en Quetzaltenango la edad máxima fue cinco meses. Todos los cerdos en Santa Rosa se encontraban libres o en espacios mayores a 1 m<sup>2</sup> por individuo, mientras que en Quetzaltenango la densidad de cerdos fue mayor, con una mediana de 2 cerdos/m<sup>2</sup> y un máximo de 5 cerdos/m<sup>2</sup>. La mediana de aves de corral (tanto pollos y/o pavos como patos y/o gansos) fue 0 en ambos departamentos se reportaron pocas aves de corral que convivían con los cerdos muestreados. Sin embargo, el máximo de aves reportado fue mayor en Quetzaltenango.

En total 30 animales en Santa Rosa y 30 en Quetzaltenango presentaron infección por virus de influenza A. La mediana de edad de estos animales fue de 3 meses (rango intercuartil [RIC]: 3-4 meses, rango: 1.2-7 meses). Ninguno de los animales de Santa Rosa presentó anticuerpos contra influenza A, pero sí 13 animales en Quetzaltenango. La mediana de edad de estos animales fue de (RIC: 3-3 meses, rango: 2-4 meses). Ninguno de los animales presentó tanto infección como anticuerpos por/contra virus de influenza A y ninguno de los animales positivos presentó signos respiratorios. El porcentaje de granjas positivas en Santa Rosa fue menor al de Quetzaltenango (**Tabla 3**). El número de animales positivos por granja también fue mayor en Quetzaltenango tanto para la infección como para la presencia de anticuerpos. Solamente una granja en Quetzaltenango presentó tanto un animal con infección por virus de influenza A y otro con anticuerpos contra el virus.

Las prevalencias observadas para cada departamento se muestran en la **Tabla 6 (a)**. Se observó una prevalencia viral de 19% en Santa Rosa 14% en Quetzaltenango. Adicionalmente se observó una prevalencia serológica de 0% en Santa Rosa y 9% en Quetzaltenango. No se encontró diferencia estadísticamente significativa en la prevalencia virológica entre Santa Rosa y Quetzaltenango (no se rechaza H1<sub>0</sub>), pero sí entre la prevalencia serológica de ambos departamentos (se rechaza H2<sub>0</sub>).

Los estimados de varianza, ED e CCI se muestran en la **Tabla 6 (b)**. De acuerdo a los valores del ED, la varianza de la muestra para el estimado de prevalencia virológica en Santa Rosa asumiendo PPT fue 3.7 mayor que asumiendo MSA, mientras que en Quetzaltenango las varianzas fueron iguales. Además, la varianza para el estimado de prevalencia serológica en Quetzaltenango asumiendo PPT fue 3.4 mayor que asumiendo MSA. El ED y la CCI no pudieron ser calculados para la muestra del estimado de prevalencia serológica en Santa Rosa debido a que no se encontraron muestras positivas en ese departamento.

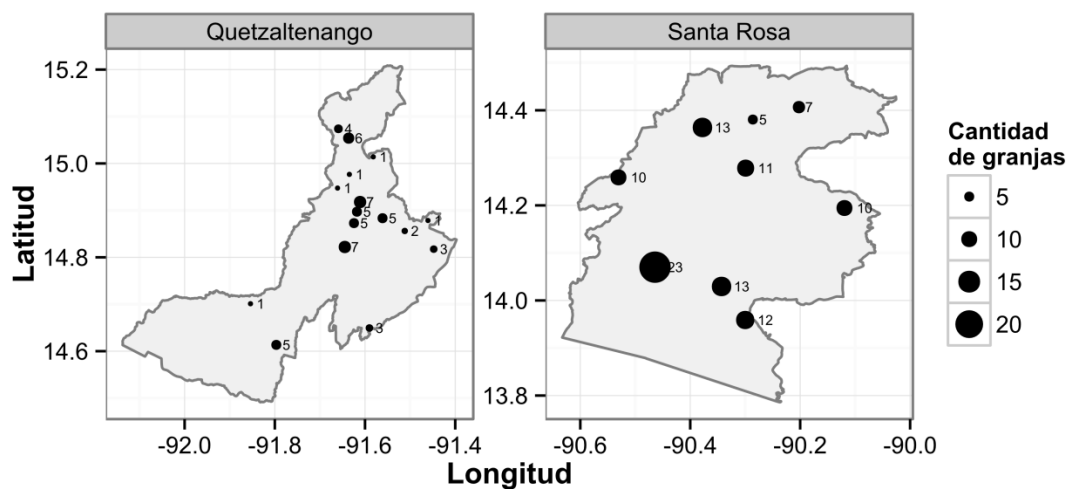
La asociación entre las características de los cerdos y la infección por influenza A por departamento obtenidas en el análisis bivariado se muestran en la **Tabla 7**. Aunque solamente 3% de los cerdos muestreados en Santa Rosa eran criados con patos y/o gansos, se encontró una asociación significativa entre la presencia de estas aves domésticas en la granja y la infección por influenza A (*RRP*: 5, *IC 95%*: 2.5, 9.7). Para el departamento de Quetzaltenango no se encontraron asociaciones significativas entre las características evaluadas y la infección por influenza A.

Algunas otras características parecen estar asociadas a la infección por influenza A, pero tienen intervalos en el borde de los valores significativos (un valor en el borde es definido aquí como *IC 95%* inferior  $\geq 0.6$  a 1). Estas incluyen el sexo y edad del cerdo en Santa Rosa (hembra y juvenil), la categoría del animal (lechón tanto en Quetzaltenango como en Santa Rosa, y cerdo en crecimiento en Santa Rosa), la densidad de cerdos en la granja en Santa Rosa ( $<1$  cerdo por  $m^2$ ), si el cerdo es criado con pollos y/o pavos (en Santa Rosa y Quetzaltenango) y si el cerdo es criado con patos y/o gansos en Quetzaltenango. No fue posible calcular la asociación entre la edad de los cerdos en Quetzaltenango y la infección por influenza A porque solamente se muestrearon cerdos juveniles. Tampoco entre la presencia de signos respiratorios en o en ser criados con otros cerdos que presentaron signos respiratorios al momento del muestreo en la granja o durante el último mes en Quetzaltenango, debido a que en este departamento ninguno de los cerdos positivos presentó signos respiratorios.

De acuerdo a los resultados anteriores, se realizó un análisis multivariado con categoría del animal (lechón o no) y presencia de aves en la granja (cualquier especie). Debido a que se detectaron 30 cerdos con infección por influenza A, el número de parámetros que pueden ser estimados son 2 [(30/10)-1], de acuerdo a los criterios expuestos previamente]. Los resultados se

muestran en la **Tabla 8**. Aunque ambas características parecen estar asociadas a la infección por influenza A, esta asociación no fue estadísticamente significativa.

**Figura 2. Localización de las granjas muestreadas por departamento, Guatemala 2012**



En el 100% de las localidades en Santa Rosa y el 5% de las localidades en Quetzaltenango se muestran las cabeceras municipales como una aproximación a la localización específica de las granjas muestreadas debido a que no se registraron las coordenadas geográficas y en el cuestionario no se preguntaron localidades más específicas.

**Tabla 3. Características de las granjas muestreadas por departamento, Guatemala 2012**

	Granjas muestreadas <i>n</i>	Cerdos muestreados por granja		Granjas positivas <i>n</i> (%)	Cerdos positivos por granja	
		<i>Mediana (RIC)</i>	<i>Min.-Max.</i>		<i>Mediana (RIC)</i>	<i>Min.-Max.</i>
<b>Virus de influenza A</b>						
Santa Rosa	104	1 (1-2)	1-18	27 (26)	1 (1-1)	1-2
Quetzaltenango	57	2 (1-4)	1-40	18 (32)	1 (1-2)	1-4
Total	161	1 (1-2)	1-40	45 (28)	1 (1-1)	1-4
<b>Anticuerpos contra influenza A</b>						
Santa Rosa	104	1 (1-2)	1-18	0 (0)	0	0
Quetzaltenango	57	2 (1-4)	1-40	10 (18)	1 (1-1)	1-3
Total	161	1 (1-2)	1-40	10 (6)	1 (1-1)	1-3

*n* = número de cerdos; Med. = mediana; RIC = rango intercuartil; Min. = mínimo; Max. = máximo

**Tabla 4. Características de los individuos muestreados por departamento, variables categóricas, Guatemala 2012**

Característica del cerdo	Departamento		Total <i>n (%)</i>
	Santa Rosa <i>n (%)</i>	Quetzaltenango <i>n (%)</i>	
<b>Sexo</b>			
Macho	140 (70)	153 (76)	293 (73)
Hembra	53 (26)	47 (24)	100 (25)
N/d	7 (4)	0 (0)	7 (2)
<b>Edad</b>			
Juvenil (1 - 5 meses)	128 (64)	198 (99)	326 (82)
Adulto joven (6 - 12 meses)	51 (26)	0 (0)	51 (13)
Adulto (> 12 meses)	2 (1)	0 (0)	2 (0)
N/d	19 (10)	2 (1)	21 (5)
<b>Categoría de producción</b>			
Lechón	17 (8)	157 (78)	174 (44)
Destetado	0 (0)	5 (2)	5 (1)
Crecimiento	137 (68)	38 (19)	175 (44)
Finalización	3 (2)	0 (0)	3 (1)
Reproductor	33 (16)	0 (0)	33 (8)
N/d	10 (5)	0 (0)	10 (2)
<b>Tipo de granja</b>			
Semitecnificada	1 (0)	80 (40)	81 (20)
Traspatio	199 (100)	120 (60)	319 (80)
<b>Signos respiratorios</b>			
Sin signos	194 (97)	192 (96)	386 (96)
Con signos	0 (0)	8 (4)	8 (2)
N/d	6 (3)	0 (0)	6 (2)
<b>Criado con otros cerdos con signos respiratorios al momento del muestreo</b>			
No	194 (97)	192 (96)	386 (96)
Sí	0 (0)	8 (4)	8 (2)
N/d	6 (3)	0 (0)	6 (2)
<b>Criado con otros cerdos con signos respiratorios durante el último mes</b>			
No	190 (95)	192 (96)	382 (96)
Sí	0 (0)	8 (4)	8 (2)
N/d	10 (5)	0 (0)	10 (2)

La tabla continúa en la página siguiente.

Continuación Tabla 4

Característica del cerdo	Departamento		Total n (%)
	Santa Rosa n (%)	Quetzaltenango n (%)	
<b>Densidad (cerdos/m<sup>2</sup>)</b>			
Libres	54 (27)	2 (1)	56 (14)
< 1	26 (13)	24 (12)	50 (12)
1 a < 2	0 (0)	76 (38)	76 (19)
2 a < 3	0 (0)	78 (39)	78 (20)
3 a < 4	0 (0)	16 (8)	16 (4)
4 a < 5	0 (0)	3 (2)	3 (1)
N/d	120 (60)	1 (0)	121 (30)
<b>Criado con pollos y/o pavos</b>			
No	176 (88)	111 (56)	287 (72)
Sí	24 (12)	89 (44)	113 (28)
N/d	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<b>Criado con patos y/o gansos</b>			
No	194 (97)	160 (80)	354 (88)
Sí	6 (3)	38 (19)	44 (11)
N/d	0 (0)	2 (1)	2 (0)
<b>Total</b>	200	200	400

n = número de cerdos; N/d = no hay datos. Debido a que la unidad de análisis es el individuo, y el diseño muestral toma en cuenta la correlación entre muestras de un mismo conglomerado, cuando hay más de un individuo por granja se repiten los datos para cada uno. Signos al momento del muestreo evaluados por el médico veterinario del MAGA a cargo del muestreo. Signos previos reportados por la persona entrevistada. Criado en la misma granja no necesariamente significa en proximidad.

**Tabla 5. Características generales de los individuos muestreados por departamento, variables continuas, Guatemala 2012**

Característica del cerdo	Departamento								
	Santa Rosa			Quetzaltenango			Total		
	Med. (RIC)	Min.- Max.	n	Med. (RIC)	Min.- Max.	n	Med. (RIC)	Min.- Max.	n
Edad ( <i>meses</i> )	4 (3-6)	1.2-16	181	3 (3-3)	2-5	198	3 (3-4)	1.2-16	379
Densidad ( <i>cerdos/m<sup>2</sup></i> )	0 (0.2-0.5)	0.1-0.7	26	2 (1.1-2.4)	0.5-4.5	197	2 (1-2.4)	0.1-4.5	223
Cerdos en la granja	3 (2-5)	1-18	191	8 (3-45)	1-60	199	4 (2-12)	1-60	390
Pollos y/o pavos en la granja	0 (0-0)	0-10	200	0 (0-10)	0-200	200	0 (0-4)	0-200	400
Patos y/o gansos en la granja	0 (0-0)	0-3	200	0 (0-0)	0-12	198	0 (0-0)	0-12	398
Personas en la granja	6 (5-7)	2-10	161	5 (4-6)	2-10	198	5 (4-7)	2-10	359

Med. = mediana; RIQ = rango intercuartil; Min = mínimo; Max = máximo. Debido a que la unidad de análisis es el individuo, y el diseño muestral toma en cuenta la correlación entre muestras de un mismo conglomerado, cuando hay más de un individuo por granja se repiten los datos para cada uno. Adicionalmente, 54 cerdos de Santa Rosa y dos de Quetzaltenango no estaban confinados a un espacio definido (“libres”).

**Tabla 6. a) Prevalencia estimada de virus de influenza A y de anticuerpos en poblaciones porcinas, y b) estadísticos de la muestra; Santa Rosa y Quetzaltenango, Guatemala, 2012**

a)	Prevalencia x 100 individuos	Comparación de grupos	
Virus de influenza A	<i>p</i> *100 (IC 95%)	valor- <i>p</i>	
Santa Rosa	18.5 (13.7, 23.3)	0.75	
Quetzaltenango	13.5 (11.5, 15.5)		
<b>Anticuerpos contra influenza A</b>			
Santa Rosa	0 (0, 0)	0.03	
Quetzaltenango	9 (6.9, 11.1)		
b)	Estadístico		
Virus de influenza A	Varianza	ED	CCI
Santa Rosa	0.002	3.7	0.1
Quetzaltenango	0.001	1	0.002
<b>Anticuerpos contra influenza A</b>			
Santa Rosa	0	N/c	N/c
Quetzaltenango	0.001	3.4	0.2

ED = efecto de diseño; CCI = coeficiente de correlación intraconglomerado; N/c = no calculable

**Tabla 7. Asociación entre características de los cerdos y la infección por influenza A en Santa Rosa y Quetzaltenango, Guatemala, 2012**  
(análisis bivariado)

Característica del cerdo	Santa Rosa ( <i>n</i> = 200)						Quetzaltenango ( <i>n</i> = 200)					
	Sí		No		RRP	IC 95%	Sí		No		RRP	IC 95%
	<i>n</i>		<i>n</i>				<i>n</i>		<i>n</i>			
	VIA (++)	VIA (--)	VIA (++)	VIA (--)			VIA (++)	VIA (--)	VIA (++)	VIA (--)		
<b>Sexo</b>												
Hembra	9	44	20	120	<b>1.2</b>	<b>(0.6, 2.4)</b>	5	42	25	128	0.7	(0.3, 1.6)
<b>Edad</b>												
Juvenil	20	108	6	47	<b>1.4</b>	<b>(0.6, 3.2)</b>	29	169	0	0	N/c	N/c
Adulto joven	6	45	20	110	0.8	(0.3, 1.8)	–	–	–	–	–	–
Adulto	0	2	26	153	N/c	N/c	–	–	–	–	–	–
<b>Categoría de producción</b>												
Lechón	4	13	25	148	<b>1.6</b>	<b>(0.6, 4.1)</b>	28	129	2	41	<b>3.8</b>	<b>(1, 15.5)</b>
Destetado	–	–	–	–	–	–	0	5	30	165	N/c	N/c
Crecimiento	23	114	6	47	<b>1.5</b>	<b>(0.6, 3.4)</b>	2	36	28	134	0.3	(0.1, 1.2)
Finalización	0	3	29	158	N/c	N/c	–	–	–	–	–	–
Reproductor	2	31	27	130	0.4	(0.1, 1.4)	–	–	–	–	–	–
<b>Tipo de granja</b>												
Semitecnificada	0	1	30	169	N/c	N/c	9	71	21	99	0.6	(0.3, 1.3)
<b>Signos respiratorios</b>												
Sí	0	0	30	164	N/c	N/c	0	8	30	162	N/c	N/c

La tabla continúa en la página siguiente.

Continuación Tabla 7

Característica del cerdo	Santa Rosa (n = 200)						Quetzaltenango (n = 200)						
	Sí		No		RRP	IC 95%	Sí		No		RRP	IC 95%	
	n		n				n		n				
	VIA (++)	VIA (--)	VIA (++)	VIA (--)			VIA (++)	VIA (--)	VIA (++)	VIA (--)			
<b>En granja con otros cerdos con signos respiratorios al momento del muestreo</b>													
Sí	0	0	30	164	N/c	N/c	0	8	30	162	N/c	N/c	
<b>En granja con otros cerdos con signos respiratorios durante el último mes</b>													
Sí	0	0	25	165	N/c	N/c	0	8	30	162	N/c	N/c	
<b>Densidad (cerdos/m<sup>2</sup>)</b>													
Libres	5	49	6	20	0.4	(0.1, 1.2)	0	2	30	167	N/c	N/c	
< 1	6	20	5	49	<b>2.5</b>	<b>(0.8, 7.4)</b>	4	20	26	149	1.1	(0.4, 2.9)	
1 a < 2	–	–	–	–	–	–	11	65	19	104	0.9	(0.5, 1.9)	
2 a < 3	–	–	–	–	–	–	11	67	19	102	0.9	(0.5, 1.8)	
3 a < 4	–	–	–	–	–	–	3	13	27	156	1.3	(0.4, 3.7)	
4 a < 5	–	–	–	–	–	–	1	2	29	167	2.3	(0.4, 11.6)	
<b>En granja con pollos y/o pavos</b>													
Sí	6	18	24	152	<b>1.8</b>	<b>(0.8, 4.4)</b>	18	71	12	99	<b>1.9</b>	<b>(1, 3.7)</b>	
<b>En granja con patos y/o gansos</b>													
Sí	4	2	26	168	<b>5</b>	<b>(2.5, 9.7)</b>	9	29	20	140	<b>1.9</b>	<b>(0.9, 3.8)</b>	

Se muestra el número de cerdos positivos (++) y negativos (--) a virus de influenza A (VIA) por RT-PCR de acuerdo a si presentaban o no la característica. También se muestra la razón de riesgo de prevalencia (RRP) de los individuos con determinada característica, con un intervalo de confianza al 95% (IC 95%). En cada fila la prevalencia en los individuos con la característica de referencia se comparó contra la de todos los que no tenían esa característica (análisis bivariado). Los resultados en negrita indican asociaciones al borde (IC 95% inferior  $\geq 0.6$  a 1) o estadísticamente significativas. N/c = no calculable.



**Tabla 8. Asociación entre características de los cerdos y la infección por influenza A en Santa Rosa y Quetzaltenango, Guatemala, 2012 (análisis multivariado)**

Característica del cerdo	Santa Rosa (n = 200)		Quetzaltenango (n = 200)	
	<i>RRP</i>	<i>IC 95%</i>	<i>RRP</i>	<i>IC 95%</i>
<b>Categoría de producción</b>				
Lechón	<b>1.8</b>	<b>(0.7, 4.7)</b>	<b>3.8</b>	<b>(1, 15.1)</b>
<b>En granja con aves de corral</b>				
Sí	<b>2</b>	<b>(0.9, 4.8)</b>	<b>1.9</b>	<b>(1, 3.7)</b>

Se muestra la razón de riesgo de prevalencia (RRP) de los individuos con determinada característica, con un intervalo de confianza al 95% (IC 95%). Los modelos se ajustaron por todas las variables mostradas en la tabla (análisis multivariado). Los resultados en negrita indican asociaciones al borde (IC 95% inferior  $\geq 0.6$  a 1) o estadísticamente significativas.

## VIII. DISCUSIÓN

El objetivo principal de este estudio fue estimar la prevalencia virológica y serológica de influenza A en poblaciones de cerdos domésticos de dos departamentos de Guatemala, así como investigar características asociadas a la infección. Se observó una prevalencia virológica de 19% en Santa Rosa y 14% en Quetzaltenango, y una prevalencia serológica de 0% y 9%, respectivamente. Debido a que los animales se seleccionaron por conveniencia, esto limita generalizar los resultados más allá de la población y periodo de estudio. Sin embargo, las muestras provienen de un área geográfica amplia que cubre varios puntos de ambos departamentos. Los animales muestreados fueron principalmente cerdos menores de 6 meses (la mitad entre los 3 y 4 meses de edad), machos, de traspatio. En el análisis bivariado se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de patos y/o gansos en la granja y la infección por influenza A en cerdos de Santa Rosa. En el análisis multivariado, la categoría de producción (cerdo juvenil) y presencia de aves de corral parecen estar asociadas a la infección por influenza A, pero las asociaciones no fueron estadísticamente significativas.

En los estudios previos de 2010 y 2011, se reportaron prevalencias virológicas de 11% y 15% en 2010 y 2011 en Santa Rosa, y de 19% y 6% en Quetzaltenango; y serológicas de 27% y 0% en los mismos años en Santa Rosa, y 0% en Quetzaltenango (Gonzalez-Reiche *et al.* no publicado). Al igual que el presente estudio, los estudios previos se realizaron durante la época lluviosa, sin embargo, representan diferentes periodos de tiempo (octubre en 2010, junio a agosto en 2011, y mayo a octubre en 2012) (**Apéndice 3**). Esto podría indicar que la actividad viral es variable a lo largo del año, con tanto épocas de alta como baja actividad, consistente con patrones de persistencia enzoótica del virus (Rose *et al.* 2013; Simon-Grife *et al.* 2012). Además, esto es apoyado porque ninguno de los animales con infección por virus de influenza A mostró signos o pertenecía a granjas en los que se observó o se reportaron animales con signos durante el muestreo o en el último mes. La presencia de animales sin signos con infección por virus de influenza A es un factor importante para considerar al desarrollar sistemas de vigilancia. Por otro lado, es necesario realizar estudios longitudinales para conocer mejor los patrones temporales de la infección y su asociación con la presencia de signos.

Las prevalencias virológicas encontradas son similares a las reportadas para el noroccidente de México, donde recientemente encontraron 17% de muestras positivas a

virus de influenza A por RT-PCR en cerdos de 1 a 19 semanas de edad, de granjas comerciales (Lopez-Robles, Montalvo-Corral, Burgara-Estrella, & Hernandez 2014). Sin embargo, las prevalencias serológicas son menores a las reportadas en ese mismo estudio, donde 38-55% de los sueros fueron positivos para diferentes o varios subtipos de virus de influenza A. Adicionalmente, otro estudio realizado en cerdos de traspatio de la ciudad de México, reportó 18-74% de muestras positivas a diferentes subtipos (1% a H1N1 de origen humano), aunque no reportan la edad de los cerdos muestreados (Saavedra-Montanez *et al.* 2013). Los estudios de influenza en cerdos en Latinoamérica aún son escasos, y la información de regiones con sistemas de producción similares a los locales es escasa (Vincent *et al.* 2014).

Es difícil interpretar la razón de por qué la prevalencia serológica encontrada fue menor a la virológica. Esto puede deberse a que se muestrearon cerdos jóvenes, pero sin anticuerpos maternos, y que las infecciones detectadas eran agudas. Se ha estimado que 80% de los cerdos de 10 semanas de edad de granjas holandesas entran al periodo de finalización sin anticuerpos o con anticuerpos maternos en disminución, lo que los deja susceptibles a infecciones (Loeffen *et al.* 2003). No obstante, los cerdos de mayor edad que fueron muestreados también fueron negativos. Múltiples factores, incluyendo climáticos como temperatura y humedad, así como otros como los relacionados a las condiciones de crianza son probablemente importantes para determinar la circulación y exposición viral (Couacy-Hymann *et al.* 2012; Lowen & Steel 2014). Adicionalmente, es necesario conocer las cepas circulantes para mejorar el diagnóstico y determinar el desempeño del ensayo serológico utilizado con estas cepas.

Datos del MAGA (2008, no publicado) indican que los lechones y cerdos en crecimiento constituyen aproximadamente 96% de las poblaciones de cerdos a nivel nacional, por lo que se considera que la muestra obtenida representa adecuadamente las poblaciones de cerdos estudiadas. Adicionalmente, el alto porcentaje de animales de traspatio muestreados concuerda con estimados de que este tipo de explotaciones representa más del 90% de las explotaciones a nivel nacional (FAO 2009) y 73% en Quetzaltenango. Sin embargo, se ha estimado que estas producciones corresponden únicamente al 22% de la producción en Santa Rosa, por lo que los presentes resultados pueden no representar las producciones comerciales de manera adecuada (INE & MAGA 2005). Es necesario hacer estudios que incluyan cerdos en granjas comerciales, y adicionalmente comparar los dos tipos de producción para conocer si existen diferencias en la circulación viral entre sus poblaciones.

No se encontró una diferencia estadísticamente significativa de la prevalencia virológica de ambos departamentos, pero sí de la serológica. Es posible que se necesite una muestra de mayor tamaño para detectar diferencias entre la prevalencia virológica. También es posible que se necesite una muestra mayor para detectar la presencia de anticuerpos en Santa Rosa, aunque este valor es consistente al reportado para este departamento el año previo (Gonzalez-Reiche *et al.* no publicado). La precisión del estimado de prevalencia viral en Santa Rosa es menor a la de Quetzaltenango debido a que se muestrearon menos conglomerados. Los  $ED > 1$  observados sugieren que existe alta variabilidad entre los conglomerados, y que los próximos estudios deben estimar una muestra mayor a la de un muestreo aleatorio simple. Los pequeños valores de CCI observados indican que existe poca correlación entre las observaciones dentro de los conglomerados.

El objetivo principal de los estudios transversales como el presente es estimar la prevalencia para una población o subgrupo en un momento específico del tiempo. Sin embargo, esto limita inferir causalidad, puesto que para ciertas características no se conoce con seguridad el momento de la exposición (si antes, después o durante la infección). Debido al intervalo entre la exposición y ocurrencia de la enfermedad, solamente se puede evaluar una asociación estadística, dejando la inferencia causal a diseños epidemiológicos más apropiados, tales como cohortes prospectivos o estudios de casos y controles retrospectivos, que incorporan la dimensión temporal (Lee & Chia 1993; Levin 2006). Debido a esto, solamente se evaluó la prevalencia viral y exposiciones recientes o características estables. Adicionalmente, el análisis de factores de riesgo está limitado porque los recogidos no varían por individuo, sino por granja, y en estudios posteriores debe considerarse utilizar la piara como unidad de muestreo en lugar del individuo.

Las asociaciones encontradas en este estudio deben tomarse con cautela y como hipótesis para conducir estudios adicionales. Los resultados indican que los cerdos jóvenes tienen mayor riesgo de infectarse que cerdos adultos. Además, aunque muy pocos cerdos eran criados con aves de corral, los datos indican que en ambos departamentos los cerdos que son criados en la misma granja con aves de corral tienen mayor riesgo de infectarse con influenza A que los cerdos que no son criados con estos animales. Sin embargo, en ambos casos las asociaciones no fueron estadísticamente significativas. Otras variables que parecen tener asociación con la infección son el sexo, la categoría del animal y la densidad de cerdos en la granja.

Otros estudios, realizados en granjas comerciales, no encontraron que la presencia de aves de corral u otras especies fuera un factor de riesgo significativo asociado al estatus serológico de los cerdos (Mastin *et al.* 2011; Simon-Grife *et al.* 2011). Por otro lado, se ha reportado una asociación entre el aumento del número de cerdos en engorde por corral y la seropositividad para influenza, sugiriendo que esto permite más oportunidades para contacto directo o por aerosoles o crea situaciones de estrés que tienen un efecto en la predisposición a infecciones (Maes *et al.* 2001). Los estudios adicionales indicarán si los patrones encontrados aquí son consistentes. Para investigar la asociación entre la presencia de otras especies y la infección por influenza A en cerdos sería útil investigar la identidad de las cepas circulantes y sus relaciones filogenéticas, así como las características de las granjas que crían múltiples especies, que puede ser el verdadero factor de riesgo detectado. Para esto es importante considerar la implementación de vigilancias de influenza tanto animal como humana, que permitan la obtención de aislados virales que puedan compararse. Este estudio es un primer paso hacia este fin, pues se llevó a cabo en un sitio donde existe vigilancia de influenza en aves silvestres y humanos. Adicionalmente, deben diseñarse estudios que controlen de manera adecuada el efecto de diferentes variables para poder evaluar su efecto en la circulación viral.

El análisis de algunas características estuvo limitado por datos faltantes. Es posible que esto se deba a la falta de personal de campo, puesto que el trabajo a menudo se realiza entre unas pocas personas, y es un factor que debe tomarse en cuenta al implementar un sistema factible de vigilancia. Adicionalmente, el reporte de la presencia de signos respiratorios al momento del muestreo y durante el último mes pudo estar limitado por criterios subjetivos tanto de los médicos veterinarios del MAGA como de la persona entrevistada, pues no se desarrolló una definición de caso clínico. Sin embargo, se buscó coleccionar la presencia de cualquier signo respiratorio. La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO por sus siglas en inglés) define un caso posible como “un conglomerado de casos clínicos en cerdos que muestran fiebre, estornudos, tos, descargas nasales o descargas oculares en al menos una unidad de interés, desarrollados dentro de una semana, y que afectan al menos 10% de los animales presentes” (FAO 2010). Un aumento en la frecuencia de estornudos y tos, así como de individuos con pirexia ( $> 40.2^{\circ}\text{C}$ ) se han asociado a una mayor proporción de cerdos positivos y a mayores descargas virales (Rose *et al.* 2013).

## **IX. CONCLUSIONES**

De acuerdo a las hipótesis de trabajo y los resultados obtenidos, se obtuvieron las siguientes conclusiones:

- A.** La prevalencia virológica de influenza A estimada para la población y periodo de estudio es de 19% en Santa Rosa y 14% en Quetzaltenango.
- B.** La prevalencia serológica de influenza A estimada para la población y periodo de estudio es de 0% en Santa Rosa y 9% en Quetzaltenango.
- C.** No se encontró una diferencia significativa entre la prevalencia virológica de ambos departamentos.
- D.** Se encontró una diferencia significativa entre la prevalencia serológica de ambos departamentos.
- E.** No se encontraron asociaciones significativas entre las características investigadas y la infección por influenza A.

## **X. RECOMENDACIONES**

Para darle continuidad a este estudio de influenza A en poblaciones de cerdos de Guatemala se recomienda:

- A.** Hacer estudios longitudinales para conocer los patrones de variación temporal en la actividad viral.
- B.** Hacer estudios que incluyan cerdos en granjas comerciales, y adicionalmente comparar los dos tipos de producción para conocer si existen diferencias en la circulación viral entre sus poblaciones.
- C.** En estudios que utilicen la misma metodología de muestreo que el presente, aumentar el número total de muestras y conglomerados tomando en cuenta tanto el ED como las seroprevalencias aquí estimadas. Para implementar un sistema de vigilancia tomar en cuenta la factibilidad de acuerdo al número de personal con que se cuenta, entre otros criterios.
- D.** Investigar la asociación encontrada entre la presencia de aves de corral y la infección por influenza A en cerdos como parte de estudios dirigidos específicamente a investigar factores de riesgo.
- E.** Desarrollar una definición de caso clínico para investigar la presencia de signos respiratorios, pero hacer muestreos que también tomen en cuenta la presencia de animales sin signos.

## XI. LITERATURA CITADA

- Alexander, D. J. (2000). *A review of avian influenza in different bird species*. *Veterinary microbiology*, 74(1-2), 3-13.
- Bierrenbach, A. (2008). *Training workshops on TB prevalence surveys: Steps in applying probability proportional to size*. World Health Organization. Disponible en [http://www.who.int/tb/advisory\\_bodies/impact\\_measurement\\_taskforce/meetings/prevalence\\_survey/workshops/en/](http://www.who.int/tb/advisory_bodies/impact_measurement_taskforce/meetings/prevalence_survey/workshops/en/) (accesado 2014-05-19).
- Bouvier, N. M., & Palese, P. (2008). *The biology of influenza viruses*. *Vaccine*, 26 Suppl 4, D49-53.
- Brown, I. (2000). *The epidemiology and evolution of influenza viruses in pigs*. *Veterinary microbiology*, 74(1-2), 29-46.
- CDC. (2009). *Update: influenza activity -United States, August 30-October 31, 2009*. *MMWR*, 58(44), 6.
- CDC. (2012a). *Influenza type A viruses and subtypes*. Disponible en <http://www.cdc.gov/flu/avianflu/influenza-a-virus-subtypes.htm> (accesado 2012-11-14; última actualización 2012-03-22).
- CDC. (2012b). *Information on swine influenza/variant influenza viruses*. Disponible en: <http://www.cdc.gov/flu/swineflu/> (accesado 2013-01-07; última actualización 2012-01-07).
- CDC. (2012c). *Principles of epidemiology in public health practice*. (3a. ed.). Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. 511pp.
- CDC. (2013a). *2012-2013 influenza season week 52 ending December 29, 2012*. FluView. Disponible en <http://www.cdc.gov/flu/weekly/> (última actualización 2013-01-04).
- CDC. (2013b). *Reported infections with variant influenza viruses in the United States since 2005*. Disponible en <http://www.cdc.gov/flu/swineflu/variant-cases-us.htm> (accesado 2013-01-08; última actualización 2013-01-04).
- CES. (2014). *Reporte hasta semana 12, 2014 -Infecciosas y emergentes*. Disponible en [http://www.acervosalud.net/attachments/article/76/09\\_Influenza\\_Tablas\\_Curvas.2014.0324.pdf](http://www.acervosalud.net/attachments/article/76/09_Influenza_Tablas_Curvas.2014.0324.pdf)



- Couacy-Hymann, E., Kouakou, V. A., Aplogan, G. L., Awoume, F., Kouakou, C. K., Kakpo, L., *et al.* (2012). *Surveillance for influenza viruses in poultry and swine, west Africa, 2006-2008*. *Emerging infectious diseases*, 18(9), 1446-1452.
- Dutch, S. (2010). *Convert between geographic and UTM coordinates*. Disponible en <http://www.uwgb.edu/dutchs/usefuldata/ConvertUTMNoOZ.HTM> (accesado 2012-01-01; última actualización 2011-02-15).
- Dvorak, G., Rovid-Spickler, A., & Roth, J. (2008). *Handbook for zoonotic diseases of companion animals*: Center for Food Security & Public Health Iowa State University.
- FAO. (2009). *Caracterización regional de la producción porcina y análisis de la situación epidemiológica (2006-2008) de la peste porcina clásica en 21 países de América*: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 255pp.
- FAO. (2010). *FAO guidelines for surveillance of pandemic H1N1/2009 and other influenza viruses in swine populations*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. 24pp.
- Fouchier, R. A., Munster, V., Wallensten, A., Bestebroer, T. M., Herfst, S., Smith, D., *et al.* (2005). *Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls*. *J Virol*, 79(5), 2814-2822.
- Garten, R. J., Davis, C. T., Russell, C. A., Shu, B., Lindstrom, S., Balish, A., *et al.* (2009). *Antigenic and genetic characteristics of swine-origin 2009 A(H1N1) influenza viruses circulating in humans*. *Science*, 325(5937), 197-201.
- Gonzalez-Reiche, A. S., Morales-Betoulle, M. E., Alvarez, D., Betoulle, J. L., Müller, M. L., Sosa, S. M., *et al.* (2012). *Influenza A viruses from wild birds in Guatemala belong to the North American lineage*. *PLoS One*, 7(3), e32873.
- IGN. (2000). *Diccionario geográfico nacional*. Guatemala: Instituto Geográfico Nacional.
- INE. (2002). *XI Censo de población y VI censo de habitación*: Instituto Nacional de Estadística.
- INE. (2006). *Proyecciones de población y lugares poblados con base al XI Censo de población y VI de habitación 2002, periodo 2000-2020*: Instituto Nacional de Estadística.
- INE. (2007). *Encuesta nacional agropecuaria 2007*.
- INE, & MAGA. (2005). *IV Censo nacional agropecuario, 2003*. Guatemala: Instituto Nacional de Estadística; Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación.

- Kawaoka, Y., Bordwell, E., & Webster, R. G. (1987). *Intestinal replication of influenza A viruses in two mammalian species. Brief report.* Arch Virol, 93(3-4), 303-308.
- Keawcharoen, J., van Riel, D., van Amerongen, G., Bestebroer, T., Beyer, W. E., van Lavieren, R., et al. (2008). *Wild ducks as long-distance vectors of highly pathogenic avian influenza virus (H5N1).* Emerging infectious diseases, 14(4), 600-607.
- Killip, S., Mahfoud, Z., & Pearce, K. (2004). *What is an intracluster correlation coefficient? Crucial concepts for primary care researchers.* Annals of family medicine, 2(3), 204-208.
- Kim, J. K., Negovetich, N. J., Forrest, H. L., & Webster, R. G. (2009). *Ducks: the "Trojan horses" of H5N1 influenza.* Influenza Other Respi Viruses, 3(4), 121-128.
- Kimble, B., Nieto, G., & Perez, D. (2010). *Characterization of influenza virus sialic acid receptors in minor poultry species.* Virology journal, 7, 365.
- Lee, J. (1994). *Odds ratio or relative risk for cross-sectional data?* International journal of epidemiology, 23(1), 201-203.
- Lee, J., & Chia, K. S. (1993). *Estimation of prevalence rate ratios for cross sectional data: an example in occupational epidemiology.* British journal of industrial medicine, 50(9), 861-862.
- Levin, K. A. (2006). *Study design III: Cross-sectional studies.* Evidence-based dentistry, 7(1), 24-25.
- Lindblade, K. A., Arvelo, W., Gray, J., Estevez, A., Frenkel, G., Reyes, L., et al. (2010). *A comparison of the epidemiology and clinical presentation of seasonal influenza A and 2009 pandemic influenza A (H1N1) in Guatemala.* PLoS One, 5(12), e15826.
- Loeffen, W. L., Nodelijk, G., Heinen, P. P., van Leengoed, L. A., Hunneman, W. A., & Verheijden, J. H. (2003). *Estimating the incidence of influenza-virus infections in Dutch weaned piglets using blood samples from a cross-sectional study.* Veterinary microbiology, 91(4), 295-308.
- Lopez-Robles, G., Montalvo-Corral, M., Burgara-Estrella, A., & Hernandez, J. (2014). *Serological and molecular prevalence of swine influenza virus on farms in northwestern Mexico.* Veterinary microbiology, 172(1-2), 323-328.
- Lowen, A. C., & Steel, J. (2014). *Roles of humidity and temperature in shaping influenza seasonality.* Journal of Virology, 88(14), 7692-7695.

- Ma, W., Kahn, R. E., & Richt, J. A. (2008). *The pig as a mixing vessel for influenza viruses: Human and veterinary implications*. *J Mol Genet Med*, 3(1), 158-166.
- Maes, D., Chiers, K., Haesebrouck, F., Laevens, H., Verdonck, M., & de Kruif, A. (2001). *Herd factors associated with the seroprevalences of Actinobacillus pleuropneumoniae serovars 2, 3 and 9 in slaughter pigs from farrow-to-finish pig herds*. *Veterinary research*, 32(5), 409-419.
- MAGA. (2000). *Acuerdo ministerial no. 1345 - 2000*. Disponible en [http://portal2.maga.gob.gt/unr\\_normativas/pdfs/104628392413452000.pdf](http://portal2.maga.gob.gt/unr_normativas/pdfs/104628392413452000.pdf) (accesado 2013-01-13)
- MAGA. (2003a). *Acuerdo ministerial no. 1528 - 2003*. Disponible en [http://portal2.maga.gob.gt/unr\\_normativas/pdfs/1071001315am15282003.pdf](http://portal2.maga.gob.gt/unr_normativas/pdfs/1071001315am15282003.pdf) (accesado 2013-01-13)
- MAGA. (2003b). *Recursos zoogenéticos de Guatemala. Primer borrador*. Guatemala: Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación.
- Martinez, M. A., Sanchez, A., & Fajardo, J. F. (2006). *Bioestadística amigable*: Díaz de Santos.
- Mastin, A., Alarcon, P., Pfeiffer, D., Wood, J., Williamson, S., Brown, I., *et al.* (2011). *Prevalence and risk factors for swine influenza virus infection in the English pig population*. *PLoS currents*, 3, RRN1209.
- Morales-Betoulle, M. E., Komar, N., Panella, N. A., Alvarez, D., Lopez, M. R., Betoulle, J. L., *et al.* (2013). *West Nile virus ecology in a tropical ecosystem in Guatemala*. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 88(1), 116-126.
- Muramoto, Y., Noda, T., Kawakami, E., Akkina, R., & Kawaoka, Y. (2013). *Identification of novel influenza A virus proteins translated from PA mRNA*. *Journal of Virology*, 87(5), 2455-2462.
- Nelson, M. I., Gramer, M. R., Vincent, A. L., & Holmes, E. C. (2012). *Global transmission of influenza viruses from humans to swine*. *The Journal of general virology*, 93(Pt 10), 2195-2203.
- OIE. (2010). *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals: Swine influenza (Chapter 2.8.8)*.

- OIE. (2014). *OIE-Listed diseases, infections and infestations in force in 2014*. Disponible en <http://www.oie.int/animal-health-in-the-world/oie-listed-diseases-2014/>
- R Development Core Team. (2012). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. [28 July 2012]. Disponible en <http://www.R-project.org/>
- Ramirez, A. L. (2012). *Spatial distribution of influenza A virus in swine farms from Guatemala*. Prince Leopold Institute of Tropical Medicine, Antwerp.
- Reyes, L., Arvelo, W., Estevez, A., Gray, J., Moir, J. C., Gordillo, B., et al. (2010). *Population-based surveillance for 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus in Guatemala, 2009*. *Influenza Other Respi Viruses*, 4(3), 129-140.
- Rose, N., Herve, S., Eveno, E., Barbier, N., Eono, F., Dorenlor, V., et al. (2013). *Dynamics of influenza A virus infections in permanently infected pig farms: evidence of recurrent infections, circulation of several swine influenza viruses and reassortment events*. *Veterinary research*, 44, 72.
- Rothman, K. J. (2002). *Epidemiology : an introduction*. New York, N.Y.: Oxford University Press.
- Saavedra-Montanez, M., Carrera-Aguirre, V., Castillo-Juarez, H., Rivera-Benitez, F., Rosas-Estrada, K., Pulido-Camarillo, E., et al. (2013). *Retrospective serological survey of influenza viruses in backyard pigs from Mexico City*. *Influenza and other respiratory viruses*, 7(5), 827-832.
- SEGEPLAN, INE, & URL. (2004). *Mapas de pobreza 2002*: Secretaría de Planificación y Gestión de la Presidencia, Instituto Nacional de Estadística, Universidad Rafael Landívar.
- Senne, D. A. (2003). *Avian influenza in the Western Hemisphere including the Pacific Islands and Australia*. *Avian diseases*, 47(3 Suppl), 798-805.
- Serrano, L., Veliz, Y., & Motta, M. (2011). *Evaluación y monitoreo nacional de influenza: utilizando la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (HI) para detección de cerdos seropositivos*. Guatemala: Editorial Académica Española.
- Simon-Grife, M., Martin-Valls, G. E., Vilar, M. J., Busquets, N., Mora-Salvatierra, M., Bestebroer, T. M., et al. (2012). *Swine influenza virus infection dynamics in two pig farms: results of a longitudinal assessment*. *Veterinary research*, 43, 24.

- Simon-Grife, M., Martin-Valls, G. E., Vilar, M. J., Garcia-Bocanegra, I., Mora, M., Martin, M., *et al.* (2011). *Seroprevalence and risk factors of swine influenza in Spain*. *Veterinary microbiology*, 149(1-2), 56-63.
- Slomka, M. J., Densham, A. L., Coward, V. J., Essen, S., Brookes, S. M., Irvine, R. M., *et al.* (2010). *Real time reverse transcription (RRT)-polymerase chain reaction (PCR) methods for detection of pandemic (H1N1) 2009 influenza virus and European swine influenza A virus infections in pigs*. *Influenza and other respiratory viruses*, 4(5), 277-293.
- Smith, G. J., Vijaykrishna, D., Bahl, J., Lycett, S. J., Worobey, M., Pybus, O. G., *et al.* (2009). *Origins and evolutionary genomics of the 2009 swine-origin H1N1 influenza A epidemic*. *Nature*, 459(7250), 1122-1125.
- Spackman, E., Senne, D. A., Myers, T. J., Bulaga, L. L., Garber, L. P., Perdue, M. L., *et al.* (2002). *Development of a real-time reverse transcriptase PCR assay for type A influenza virus and the avian H5 and H7 hemagglutinin subtypes*. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(9), 3256-3260.
- Stevenson, M., Nunes, T., Javier, S., Thornton, R., Reiczigel, J., Robinson-Cox, J., *et al.* (2012). *epiR: An R package for the analysis of epidemiological data. R package version 0.0-40. [28 July 2012]*. Disponible en <http://CRAN.R-project.org/package=epiR>
- Sullivan, K. (2010). *Sampling for epidemiologists*. Rollins School of Public Health, Emory University, Atlanta. 27pp.
- Tong, S., Li, Y., Rivaille, P., Conrardy, C., Castillo, D. A., Chen, L. M., *et al.* (2012). *A distinct lineage of influenza A virus from bats*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109(11), 4269-4274.
- Tong, S., Zhu, X., Li, Y., Shi, M., Zhang, J., Bourgeois, M., *et al.* (2013). *New world bats harbor diverse influenza A viruses*. *PLoS pathogens*, 9(10), e1003657.
- Tse, L. V., Hamilton, A. M., Friling, T., & Whittaker, G. R. (2014). *A novel activation mechanism of avian influenza virus H9N2 by furin*. *Journal of Virology*, 88(3), 1673-1683.
- Vannier, P., Gourreau, J., & Kaiser, C. (1985). *Infection experimentale de porcs exempts d'organismes pathogenes specifiques avec une souche du virus de la grippe porcine (HSW(1)N(1)) et etude de la duree d'excretion virale*. *The Canadian veterinary journal. La revue veterinaire canadienne*, 26(4), 138-143.

- Vincent, A., Awada, L., Brown, I., Chen, H., Claes, F., Dauphin, G., *et al.* (2014). *Review of influenza A virus in swine worldwide: a call for increased surveillance and research.* *Zoonoses and public health*, 61(1), 4-17.
- Vincent, A. L., Ma, W., Lager, K. M., Janke, B. H., & Richt, J. A. (2008). *Swine influenza viruses a North American perspective.* *Advances in virus research*, 72, 127-154.
- Webster, R. G., Bean, W. J., Gorman, O. T., Chambers, T. M., & Kawaoka, Y. (1992). *Evolution and ecology of influenza A viruses.* *Microbiol Rev*, 56(1), 152-179.
- Zocchetti, C., Consonni, D., & Bertazzi, P. A. (1997). *Relationship between prevalence rate ratios and odds ratios in cross-sectional studies.* *International journal of epidemiology*, 26(1), 220-223.
- Zou, G. (2004). *A modified poisson regression approach to prospective studies with binary data.* *American journal of epidemiology*, 159(7), 702-706.

## XII. APÉNDICES

### A. Apéndice 1

Fórmulas utilizadas para el cálculo de estadísticos.

#### 1. Tamaño de muestra para poblaciones finitas (Sullivan 2010). Donde:

n = número de individuos muestreados

PPT = probabilidad proporcional al tamaño

ED = efecto de diseño

N = tamaño de la población

$\hat{p}$  = proporción estimada

$\hat{q} = 1 - \hat{p}$

d = precisión absoluta deseada

t = cuantil en distribución de Student

$\alpha$  = nivel de significancia (probabilidad de error tipo I)

m = número de conglomerados

MSA = muestreo simple aleatorio

$$n_{\text{ppt}} = ED \times \frac{N\hat{p}\hat{q}}{\frac{d^2}{t_{(1-\alpha/2), (m-1)}^2} (N-1) + \hat{p}\hat{q}} = ED \times n_{\text{msa}}$$

Donde:

**2. Proporción de individuos positivos a virus de influenza A.** Varianza e intervalo de confianza al 95% de acuerdo al método de conglomerados con PPT (Sullivan 2010). Estimato (“point estimate”):

$$\hat{p}_{\text{ppt}} = \frac{\sum_{i=1}^m \hat{p}_i}{m}$$

Donde:

$\hat{p}_i$  = proporción estimada en el conglomerado  $i$

$m$  = número de conglomerados

Varianza:

$$\hat{v}ar(\hat{p}_{ppt}) = \frac{\sum_{i=1}^m (\hat{p}_i - \hat{p}_{ppt})^2}{m(m-1)}$$

Intervalo de confianza:

$$IC = \hat{p}_{ppt} \pm t_{(1-\alpha/2), (m-1)} \sqrt{\hat{v}ar(\hat{p}_{ppt})}$$

### 3. Número de individuos a muestrear por conglomerado

$$n = \frac{n_{ppt}}{m}$$

**4. Efecto de diseño (ED) y coeficiente de correlación intraconglomerado (CCI).** ED es calculado como la razón de la varianza calculada asumiendo un diseño muestral complejo dividido dentro de la varianza calculada asumiendo un muestreo aleatorio simple (Sullivan 2010).

$$ED = \frac{\hat{v}ar(\hat{p}_{ppt})}{\hat{v}ar(\hat{p}_{msa})} = \frac{\hat{v}ar(\hat{p}_{ppt})}{(\hat{p}_{msa}\hat{q}_{msa}/n - 1)(N - n/N)}$$

Donde:

$\hat{p}_{msa}$  = proporción estimada asumiendo MSA

$a$  = el número de individuos con el atributo de interés

$n$  = el número de individuos muestreados

$\hat{q}_{msa} = 1 - \hat{p}_{msa}$

$N$  = tamaño de la población



Para un ED dado y un número promedio de individuos muestreados por cluster ( $\bar{n}$ ), el coeficiente de correlación intraconglomerado (CCI) se calcula de la siguiente manera (Sullivan 2010):

$$CCI = \frac{(ED - 1)}{(\bar{n} - 1)}$$

## **B. Apéndice 2**

Boleta de campo para la colecta de información de características y muestras biológicas de cerdos (mostrada en la página siguiente).

## VIGILANCIA DE VIRUS DE INFLUENZA EN POBLACIONES PORCINAS EN GUATEMALA

### Instrucciones:

1. Muestree solamente cerdos en crecimiento (2-8 meses).
2. El código de la boleta debe ser el mismo de las muestras.
3. Complete todos los campos de la boleta, todos son importantes para estudiar los virus de influenza.
4. Si muestrea más de un individuo en una unidad, puede llenar los datos generales (secciones I y II) en la primera boleta y en las siguientes indique únicamente el nombre de la finca o jefe de familia.
5. Para información de la toma de muestra, refiérase a la guía que viene incluida en el kit de material.

### I. INFORMACIÓN DE LA UNIDAD DE MUESTREO

1. **Fecha de reporte**    <sup>dd/mm/aa</sup> 2. **Ubicación:** 2.1. Departamento
- 2.2. Municipio  2.3. Localidad
- 2.5. **Coordenadas en UTM:** Zona  N(x)  E(y)
- 2.4. Nombre de la **finca** o nombre del **jefe de familia**

### II. FACTORES DE RIESGO

3. **Tipo:** Granja tecnificada  Semi-tecnificada  Unidad de traspatio  Otra:
4. **Total de cerdos** en la unidad
5. Total **cerdos actualmente con síntomas** respiratorios  Si no hay coloque '0'
6. Si NO hay cerdos con síntomas respiratorios ¿Alguno tuvo síntomas en el **último mes**? Si  No
7. ¿En total qué espacio ocupan los **cerdos** (área en metros cuadrados)?   
Si hay varios recintos/casas coloque la suma de todo (si son otras unidades y no m<sup>2</sup>, indicar las unidades)
8. ¿En total cuántas **personas** viven o trabajan aquí?
9. ¿Cuántas **gallinas/pavos** hay aquí?  Si no hay coloque '0'
10. ¿Cuántos **patos/gansos** hay aquí?  Si no hay coloque '0'

### III. INFORMACIÓN DEL INDIVIDUO MUESTREADO

11. **Sexo** Macho  Hembra
12. **Edad:**  en meses
12. **Categoría:** Lechón  Destetado  Crecimiento  Finalización  Verraco/Ventre
13. ¿**Tiene** síntomas respiratorios? Si  No

### IV. MUESTRA TOMADA

14. **Tipo:** Hisopado nasal  Sangre

### V. OBSERVACIONES:

### VI. GESTIÓN DE CALIDAD

16. **Nombre** del responsable de **toma de muestra**
17. **Fecha de envío** de muestras al laboratorio    <sup>dd/mm/aa</sup>

La boleta continúa en la página siguiente

## Continuación de apéndice 2.

----- No llenar: uso exclusivo del laboratorio -----

**VII. LABORATORIO**18. Persona que **recibe** la muestra  19. **Fecha de recepción**  dd/mm/aa20. **Inventario:** Con hisopado  sangre 21. **Calidad** (marque solo los que apliquen):Derrame muestra  Derrame medio  Tubo roto  Tubo sin tapar  Tubo acostado Numeración no corresponde  Material incompleto  Sin enfriar  Medio (VTM) color rojo 22. **Observaciones de laboratorio:**

### C. Apéndice 3

Resumen de resultados de estudios a la fecha de influenza A en los sitios de estudio.

	Prevalencia x 100 individuos			
	<i>p*100 (IC 95%)</i>			
	Febrero a noviembre 2010 <sup>1</sup>	Octubre 2010 <sup>2</sup>	Junio a agosto 2011 <sup>2</sup>	Mayo a octubre 2012
<b>Virus de influenza A</b>				
Santa Rosa	N/d	11	15	19 (14 - 23)
Quetzaltenango	N/d	19	6	14 (12 - 16)
<b>Anticuerpos contra influenza A</b>				
Santa Rosa	3 - 15	27	0	0 (0, 0)
Quetzaltenango	0 - 31	0	0	9 (7 - 11)

(<sup>1</sup>Serrano *et al.* 2011, <sup>2</sup>González-Reiche *et al.* no publicado). Se indica el intervalo de confianza al 95% si está disponible.