

ESTUDIO SEROLOGICO DE VIRUS INFLUENZA Y PARAINFLUENZA-3 EN PEQUEÑOS RUMIANTES DEL ZOOLOGICO NACIONAL DE SANTIAGO

Víctor Riveros V. (MV), Rubén Moreira Z. (MV), María O. Celedón V. (MV),
Patricio Berríos E. (MV, MS., Ph. D.)

SEROLOGICAL SURVEY OF INFLUENZA AND PARAINFLUENZA-3 VIRUSES IN SMALL RUMINANTS FROM THE NATIONAL ZOO OF SANTIAGO

A serological survey of influenza and parainfluenza-3 viruses was done in 200 serum samples from small ruminants of the National Zoo of the Metropolitan Park of Santiago Chile. Nineteen anglo-nubian goats (Capra-hircus), 32 white deers (Dama dama var. albina), 10 black deers (Dama dama var. melanica), 25 llamas (Lama glama), 30 corsican rams (Ovis musimon), 30 karakul sheep (Ovis aries) and 54 somalian sheep (Ovis aries steatopigas) were sampled.

Serum samples were analyzed through haemagglutination inhibition test with parainfluenza-3 virus (bovine and human strains), equine influenza (H7N7) and human influenza virus A/Santiago/725/81 (H3N2) and A/Santiago/743/83 (H1N1).

All samples were negative when challenged to parainfluenza-3 and equine influenza viruses. Seventeen somalian sheep, two corsican rams and two karakul sheep were found positive to human influenza virus A/Santiago/725/81 (H3N2), and two llamas were positive to human influenza virus A/Santiago/743/83 (H1N1).

Los animales confinados en zoológicos o parques nacionales son susceptibles a un gran número de enfermedades infecciosas, pudiendo además actuar como huéspedes o reservorios de microorganismos patógenos: virus, bacterias y hongos, de importancia para la salud del hombre (Schwabe, 1984). Algunas enfermedades virales de los animales que pueden afectar al hombre son entre otras, rabia (Andrews y Walton, 1977), encefalomiелitis equina del Este y Oeste (San Martín, 1976) y parainfluenza-3 (Afshar, 1969).

Para determinar la presencia de virus patógenos en especies salvajes y de zoológico se han efectuado diversas investigaciones serológicas. Algunos estudios han tenido como objetivo detectar infecciones virales de importancia en salud pública o animal (Barret y Chalmers, 1975), como por ejemplo, rota-

virus (Baumeister y Cols., 1983), virus herpes bovino 1 (Doyle y Heuschele, 1983 a), virus diarrea viral bovina (DVB) (Doyle y Heuschele, 1983 b), virus lengua azul y virus encefalomiелitis equina del Este y Oeste (Barret y Chalmers, 1975), virus influenza humana (Howe y Cols., 1966; Romvary y Cols., 1976; Ehrengut y Cols., 1980; Okazaki, 1983) y virus parainfluenza-3 (Erasmus y Cols., 1967; Provost y Cols., 1967; Barret y Chalmers, 1975).

En animales salvajes existe escasa información sobre aislamiento de virus patógenos, sin embargo, algunos autores informan haber aislado el virus parainfluenza-3 de secreciones nasales de rumiantes salvajes, específicamente de un ciervo dama (*Dama dama*), un ciervo mula (*Odocoileus hemionus*) y cuatro antílopes en libertad (*Antilocapra americana*) (Thorsen y Cols., 1977); desde búfalos africanos (*Syncerus caffer*) (Hamblin y Hedger, 1980) y desde pulmones de mono (*Erythrocebus patas*) (Churchill, 1963).

Entre los virus respiratorios, el virus PI-3 es el que ha sido más estudiado en fauna salvaje. En 3.300 sueros de 44 especies animales de ocho países africanos, se demostró la presencia de anticuerpos neutralizantes antiviral PI-3 en sueros de 20 de

Zoológico Nacional. Parque Metropolitano de Santiago. Chile.
Pío Nono 468. Santiago, Chile.

Depto. Medicina Preventiva Animal.

Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias.

Universidad de Chile. Casilla 2, Correo 15.

Santiago, Chile.

Proyecto DIB A 147-82. Universidad de Chile.

las 44 especies examinadas, siendo las poblaciones de búfalos africanos las que presentaron las más altas prevalencias de anticuerpos, considerándose a esa especie como reservorio del virus (Hamblin y Hedger, 1978).

En Sudáfrica, se detectaron altos títulos de anticuerpos contra el virus PI-3 en especies salvajes que se encontraban en su medio ambiente natural, tales como: búfalos africanos, alces (*Taurotragus oryx*), impalas (*Aepyceros melampus*), antílope arena (*Hippotragus niger*), antílope roja (*Hippotragus equinus*) e hipopótamo (*Hippopotamus amphibius*). Además, se encontraron sueros positivos en ovinos (97%), bovinos (56%), caninos (17%) y equinos (2%), pero no en caprinos, porcinos y aves (Erasmus y Cols., 1967).

En Africa Central, Provost y Cols. (1967), demostraron la presencia de anticuerpos antiviral PI-3 en sueros de ovinos, bovinos, camélidos (*Camellus bactrianus*) y antílopes (*Oryx algazel*).

En el dromedario de Chad (*Camellus dromedarius*) se determinó que la infección con el virus PI-3 es endémica en una manada, presentándose la enfermedad en forma epizootica pero con signos clínicos (Maurice y Cols., 1968).

En Canadá se encontraron anticuerpos contra los virus PI-3 y DVB en sueros de 22 alces (*Alces alces*) (Thorsen y Henderson, 1971); además, se determinó la infección de antílopes salvajes con los virus PI-3, DVB, encefalomiélitis equina del Este y Oeste, rinotraqueítis infecciosa bovina y clamidias (Barret y Chalmers., 1975).

En India y Estados Unidos de Norteamérica, se detectó la presencia de anticuerpos antiviral PI-3 en sueros de ciervos salvajes (*Axis axis*, *Odocoileus hemionus* y *Cervus nippon*) (Shah y Schaller, 1965).

Otros autores han demostrado la existencia de anticuerpos específicos contra virus influenza humano (Howe y Cols., 1966) en sueros de ovejas de cuernos grandes (*Ovis canadensis*), encontrando títulos significativos contra dos cepas A/Japón/305/57 (H2N2) y A/Japón/170/62 (H3N2), además de anticuerpos antiviral PI-3; Ehrengut y Cols., 1980) encontraron que 11 de 20 ciervos damas presentaban anticuerpos contra la cepa A/URSS/90/77 (H1N1), A/Victoria/3/75 (H3N2) y A/Texas/1/77 (H3N2); Okazaki (1983), en Japón, encontró anticuerpos contra las cepas A/Bangkok/1/79 (H3N2) y A/Kumamoto/37/79 (H1N1) en 42 sueros de visón (*Mustela vison*); Graves y Cols., (1974) en India y Nepal determinan anticuerpos contra una cepa de virus influenza humana (H3N2) en el yak (*Bos grunniens*) y sugieren que estos animales pueden ser posibles huéspedes para recombinantes del virus.

Considerando que en los últimos años se han presentado cuadros respiratorios, probablemente de origen viral, en pequeños rumiantes del Zoológico Nacional del Parque Metropolitano de Santiago, se plantea como objetivo del presente estudio demostrar indirectamente, por métodos serológicos, la posible participación de los virus parainfluenza-3, influenza equina e influenza humana en dichos cuadros.

MATERIAL Y METODOS

Los sueros se obtuvieron de 200 pequeños rumiantes: 19 cabras anglo-nubian (*Capra hircus*), 32 ciervos dama blanco (*Dama dama* var. *albina*), 10 ciervos dama negro (*Dama dama* var. *melanica*), 25 llamas (*Lama glama*), 30 muflones corso (*Ovis musimon*), 30 ovejas karakul (*Ovis aries*) y 54 ovejas somalí (*Ovis aries steatopigas*); número de animales que correspondía a la casi totalidad de las poblaciones en estudio.

Los animales, de ambos sexos, estaban aparentemente sanos y no tenían antecedentes de vacunación contra los virus en estudio. Las poblaciones de origen fueron introducidas al Zoológico Nacional por lo menos 5 años antes del muestreo; excepcionalmente algunas poblaciones tenían más de 15 ó 20 años de antigüedad en Chile.

Los sueros fueron inactivados a 56°C por 30 minutos, tratados con caolín al 25% y adsorbidos con una suspensión de eritrocitos de cobayo o gallina al 5% (Celedón y Cols., 1982). Los sueros positivos frente a las cepas de virus influenza, fueron tratados, además, con enzima destructora de receptores (Flow Lab.) (Vicente y Cols., 1979).

Como antígenos se utilizaron los virus:

— Parainfluenza-3: cepa de origen bovino replicada en cultivos celulares (MDBK) y cepa de origen humano (C-243, Flow Lab.).

— Influenza: Cepas humanas A/Santiago/725/81 (H3N2) y A/Santiago/743/83 (H1N1). (Facilitadas gentilmente por Manuela Vicente. Virología I.S.P. Santiago); y cepa equina A/equi/1/Santiago/1977 (H7N7).

La prueba de inhibición de la hemoaglutinación (IHA) se realizó esencialmente de acuerdo al método estandarizado por WHO (1975) para los virus influenza. Con el virus PI-3 se utilizó eritrocitos de cobayo y la mezcla suero y antígeno se incubó durante 60 minutos. La lectura se realizó según lo indicado por Celedón y Cols. (1982), interpretándose como positivos los sueros con títulos iguales o superiores a 16.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los 200 sueros obtenidos de ciervos dama blanco y negro, llamas, ovejas karakul, ovejas somalí, mu-

flón corso y cabra anglo-nubian, presentaron títulos de anticuerpos iguales o inferiores a 2, frente a las cepas humana y bovina del virus PI-3 y cepa del virus influenza equina (H7N7), considerados por lo tanto como negativos.

Se detectaron sueros positivos con títulos de anticuerpos 16 y 32, frente a la cepa H3N2 del virus influenza humana en 17 ovejas somalí, dos muflones corso y dos ovejas karakul; dos llamas presentaron títulos 16 frente a la cepa H1N1 del virus influenza humana. Probablemente, estos animales estuvieron expuestos a la infección con cepas del virus influenza H1N1 y H3N2 u otros virus influenza que comparten las hemoaglutininas H1 y H3. Los bajos títulos encontrados indicarían que la infección no fue reciente.

Es interesante destacar que estas especies comparten su hábitat con otras, como aves y mamíferos acuáticos, que han sido propuestas como huéspedes para la recombinación de nuevas cepas de virus influenza, actuando como posibles reservorios del virus.

Los resultados obtenidos en ovejas concuerdan con lo informado por Fyson y Cols. (1975), quienes encontraron anticuerpos contra el virus influenza A en ovejas (*Ovis aries*), cabra, conejo, perro y gato. Por otra parte, Kalter y Cols. (1971) determinaron la infección con varias cepas de virus influenza en animales salvajes de Africa; Ehrengut y Cols. (1980) comprobaron la infección con virus influenza humana en ciervos dama.

Con respecto a la prueba de IHA, ésta presenta diferencias en su ejecución (macro y micrométodo), temperatura y tiempos de incubación, tipos de eritrocitos, tratamientos y reactivos para eliminar inhibidores inespecíficos de la hemoaglutinación, los que han sido estandarizados en humanos, bovinos y ovinos pero no en animales de fauna salvaje (Celedón y Cols., 1982).

El criterio para determinar como positiva la dilución sérica mínima, en la prueba de IHA, para el virus PI-3 varía desde 8 a 64 (Thorsen y Henderson, 1971; Afshar, 1969) y para el virus influenza entre 10 y 20 (Howe y Cols., 1966); estos valores han sido establecidos en forma arbitraria o considerando factores de inespecificidad.

De acuerdo a los antecedentes obtenidos, se concluye que los pequeños rumiantes del Zoológico Nacional no han sido infectados por los virus PI-3 e influenza equina (H7N7) durante el período de muestreo y los 12 meses previos, y que algunas especies, ovejas somalí, muflón corso y oveja karakul han estado en contacto con el virus influenza humano (H3N2) y llamas con la cepa H1N1, situación de importancia en salud pública que convendría seguir estudiando, especialmente cuando coin-

cidan cuadros respiratorios en humanos y en estas especies.

RESUMEN

En 200 sueros de pequeños rumiantes del Zoológico Nacional del Parque Metropolitano de Santiago, se estudió la infección causada por virus influenza y parainfluenza-3 mediante la prueba de inhibición de la hemoaglutinación. Las especies muestradas fueron 19 cabras anglo-nubian (*Capra hircus*), 32 ciervos dama blanco (*Dama dama var. albina*), 10 ciervos dama negro (*Dama dama var. melánica*), 25 llamas (*Lama glama*), 30 muflones corso (*Ovis musimon*), 30 ovejas karakul (*Ovis aries*) y 54 ovejas somalí (*Ovis aries steatopigas*). Como antígeno se utilizaron los virus parainfluenza-3 (cepas bovina y humana), influenza equina (H7N7) e influenza humana A/Santiago/725/81 (H3N2) y A/Santiago/743/83 (H1N1).

Todos los sueros resultaron negativos frente a los virus parainfluenza-3 e influenza equina (H7N7). Con el virus influenza humana se evidenciaron dos llamas positivas frente a la cepa H1N1 y 17 ovejas somalí, dos muflones corso y dos ovejas karakul frente a la cepa H3N2.

REFERENCIAS

- AFSHAR, A. The occurrence of antibodies to parainfluenza-3 virus in sera of farm animals and man in Iran. *Br. Vet. J.* 125: 529-532, 1969.
- ANDREWS, C.H., J.R. WALTON. *Viral and bacterial zoonoses*. London, Baillieu Tindall, 1977, 161 pp.
- BARRET, M., G. CHALMERS. A serological survey of pronghorns in Alberta and Saskatchewan, 1970-1972. *J. Wildl. Dis.* 11: 157-163, 1975.
- BAUMEISTER, B., A.E. CASTRO., S.J. MCGUIRE-RODGERS., E.C. RAMSAY. Detection and control of rotavirus infections in Zoo animals. *J. Am. Vet. Assoc.* 183: 1252-1254, 1983.
- CELEDÓN, M., P. BERRÍOS, L. IBARRA, M. PINTO, S. RAMÍREZ. Inhibición de la hemoaglutinación: Comparación de macro y micrométodo. *Zbl. Vet. Med. B.* 29: 51-56, 1982.
- CHURCHILL, A.E. The isolation of PI-3 virus from fatal cases of pneumonia in *Erythrocebus patas* monkey. *Br. J. Exp. Path.* 44: 529-537, 1963.
- DOYLE, L.G., W. HEUSCHELE. Prevalence of antibody to bovine herpes virus 1 in wild ruminants captive in United States Zoos. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 183: 1255-1256, 1983 a.
- DOYLE, L.G., W. HEUSCHELE. Bovine viral diarrhea virus infection in captive exotic ruminants. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 183: 1257-1259, 1983 b.
- EHRENGUT, W., D.E. SARATEANU, G. RUTTER. Influenza A antibodies in cervine animals. *Infection* 8: 66-69, 1980.
- ERASMUS, B.J., S.T. BOSHOFF, L.M. PIETERSE. Antibodies to parainfluenza-3 virus in sera of domestic and game animals in South Africa. *Bull. Off. Int. Epizoot.* 68: 657-664, 1967.
- FYSON, R., J. WESTWOOD, A. BRUNNER. An immunoprecipitin study of the incidence of influenza A antibodies in animal sera in the Ottawa area. *Can. J. Microbiol.* 21: 1089-1101, 1975.

- GRAVES, I.L., S. PYAKURAL, V.O. SOUSA. Susceptibility of a yak to influenza A viruses and presence of H₃N₂ antibodies in animals in Nepal and India. *Bull. W.H.O.* 51: 173-178, 1974.
- HAMBLIN, C., R.S. HEDGER. Neutralizing antibodies to parainfluenza-3 virus in african wildlife, with special reference to cape buffalo (*Syncerus caffer*). *J. Wildl. Dis.* 4: 378-388, 1978.
- HAMBLIN, C., R.S. HEDGER. The isolation of parainfluenza-3 from free-living African buffalo (*Syncerus caffer*). *Vet. Rec.* 107: 18, 1980.
- HOWE, D.L., G.T. WOODS, G. MARQUIS. Infection of Bighorn sheep (*Ovis canadensis*) with Myxovirus parainfluenza-3 and other respiratory viruses. Results of serologic tests and culture of nasal swabs and lung tissue. *Bull. Wildl. Dis. Assoc.* 2: 34-37, 1966.
- KALTER, S.S., R.L. HEBERLING, B. CLAUSEN. Antibody in wild animal (african) sera to human and simian viruses. *Lab. Anim. Sci.* 21: 829-831, 1971.
- MAURICE, Y., R. QUEVAL, J.F. BARES. Enquete sur l'infection à virus parainfluenza 3 chez le dromedaire tchadien. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.* 21: 443-449, 1968.
- OKAZAKI, K. Studies on susceptibility of mink to influenza viruses, Serological evidence of human influenza virus infection in mink with avian influenza and application of mink for evaluation of influenza vaccine. *Jpn. J. Vet. Res.* 31: 95, 1983.
- PROVOST, A., C. BORREDON, R. QUEVAL, Y. MAURICE. Enquete sur l'infection des bovidés par le virus parainfluenza 3 en Afrique centrale. Application au contrôle de la sérologie de la péripneumonie. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.* 20: 51-59, 1967.
- ROMBARY, J., J. MESZAROS, J. TANYI. Spreading of virus infection among wild birds and monkeys during the influenza epidemic caused by the Victoria (3) 75 variant of A (H₃N₂) virus. *Acta Vet. Acad. Sci. Hung.* 26: 369-376, 1976.
- SAN MARTÍN, C. Las encefalitis por arbovirus con especial referencia a los equinos. *Bol. Of. Sanit. Panam.* 334: 80-97, 1976.
- SCHWABE, C. *Veterinary Medicine and Human Health.* 3rd. ed. Baltimore: Williams-Wilkins, 1984, 680 pp.
- SHAH, K.V., G.B. SCHALLER. Antibodies to Mixovirus parainfluenza-3 in sera of wild deer. *Bull. Wildl. Disc. Assoc.* 1: 31-32, 1965.
- THORSEN, J., J.P. HENDERSON. Survey for antibody to infectious bovine rhinotracheitis (IBR), bovine virus diarrhea (BDV) and parainfluenza-3 (PI-3) in moose sera. *J. Wildl. Dis.* 7: 93-95, 1971.
- THORSEN, J., L. KARSTAL, M. BARRET, G.A. CHALMERS. Viruses isolated from captive and freeranging wild ruminants in Alberta. *J. Wildl. Dis.* 13: 74-79, 1977.
- VICENTE, M., A. SOLER, M. BREÑA, R. NAJERA. Estudios serológicos de influenza en porcinos de Chile. *Bol. Of. Sanit. Panam.* 86: 325-334, 1979.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. The hemagglutination inhibition test for influenza viruses. WHO Biological Division, 1975.

Recibido enero 1987, aprobado abril 1987.