

ÍNDICE

Contenido	Paginas
I. Introducción.....	1
I.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
I.2 HIPOTESIS	3
I.3 JUSTIFICACIÓN	4
II. Objetivos.....	5
II.1 General	5
II.2 Específicos	5
III. MARCO TEÓRICO	6
III.1 SINÓNIMOS	6
III.2 CONCEPTO	6
III.3 ETIOLOGÍA	6
III.4 EPIDEMIOLOGÍA	12
III.5 PATOGENIA	15
III.6 CUADRO CLÍNICO	18
III.7 DIAGNÓSTICO	25
III.8 TRATAMIENTO	35
III.9 CONTROL, PREVENCIÓN Y PROFILAXIS	36

III.10 ERRADICACIÓN	43
IV. MATERIALES Y MÉTODO	45
IV.1 TIPO DE ESTUDIO	45
IV.2 Tamaño de muestra	46
IV.3 Descripción del método de diagnóstico	46
IV.4 Toma de muestra de sangre	53
IV.5 Materiales.....	54
V. RESULTADOS	56
VI. DISCUSIÓN	57
VII. CONCLUSIONES	58
VIII. RECOMENDACIONES	59
IX. BIBLIOGRAFÍA	60
X. ANEXOS	63

Dedicatoria de German Raúl Pozo Molina

A mi madre Bernardita Molina por darme la oportunidad de estudiar una carrera profesional y apoyarme en cada momento de mi vida y de mis estudios.

A mi abuelita Maria Molina y mi tía Juana Molina por enseñarme metodologías de estudio y hacer esas horas de estudios más placenteras y por los buenos consejos que me dieron.

Dedicatoria de Jorge Armando Amaya Estrada

A Dios nuestro creador

A mi madre Ana María Estrada Mendoza por brindarme su apoyo incondicional en los momentos más difíciles de mi vida y mis estudios.

A mi esposa Jeanyxia del Carmen Escota Vílchez por su incondicional apoyo, por persistir a mi lado en los momentos más difíciles de mi carrera universitaria.

A mi tío Marcos Antonio Estrada Mendoza por sus consejos y su incondicional apoyo económico en los momentos más y hacer de esa manera posible la culminación de una parte de mis metas planteadas en mi vida.

Agradecimientos de German Raúl Pozo Molina

Le agradezco a Dios por darme vida, salud y sabiduría en todos estos años de mi vida y por darme una madre y una familia inmensamente bella.

A mi madre y mi familia porque siempre me dieron seguridad y estabilidad en mis estudios y me apoyaron en todo lo que necesite para poder lograr mi meta de ser un profesional.

A mi novia Carmen Midence por su apoyo, sus buenos consejos y ayudarme a estudiar.

Agradecimiento de Jorge Armando Amaya Estrada

Le agradezco a Dios por Darme la vida y la opción de tener una familia excepcional, y brindarme por su gracia los medios para culminar mis estudios y la fe y el valor para persistir en estos.

A mis hermanos por servirme de apoyo en los momentos necesarios, por ser parte de mis esfuerzos que al final obtuvieron un buen resultado.

A mi Papá que me apoyo con sus consejos y sus conocimientos, para hacer de esa manera más fácil el paso por mis estudios universitarios.

Agradecimientos de ambos tesistas

A nuestra ALMA MATER por tener sus puertas abiertas a todas aquellas personas que no tenemos como pagar una universidad privada y por mantener la excelencia académica.

A nuestro tutor Dr. Migdonio Quintanilla por darnos la oportunidad de hacer esta tesis y la dedicación que tuvo en todo el proceso de investigación.

A la Lic. Karla Gonzáles por ayudarnos a procesar nuestras muestras en el CAMPUS MÉDICO.

A las estudiantes Vanesa Rojas y Laura Soriano por ayudarnos y acompañarnos en el momento de extraer las muestras.

A todos los docentes que tuvieron paciencia y la buena voluntad de enseñarnos y apoyarnos en los momentos más difíciles que pasamos al estudiar Medicina Veterinaria.

A los propietarios de las granjas porcinas: Sidar, San Pedro y Remar por permitir realizar nuestro estudio en estas instalaciones.

Seroprevalencia de la enfermedad de aujeszky en tres granjas del municipio de León

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA

UNAN-LEON

ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA



Tesis para optar al título de Licenciado en Medicina Veterinaria

Tema: Seroprevalencia de la Enfermedad de Aujeszky en tres granjas porcinas del municipio de León de Febrero a octubre del año 2008.

**Presentada por: Br. Jorge Armando Amaya Estrada
Br. German Raúl Pozo Molina**

Tutor: Dr. Migdonio Quintanilla Darce.

León septiembre del 2008

Tesis: Amaya – Pozo 2008

I. INTRODUCCIÓN

La Enfermedad de Aujeszky (EA), también conocida como pseudorabia, fue descrita por vez primera en el ganado vacuno en 1902 por el húngaro Aladar Aujeszky, diagnosticándose posteriormente en el año 1914 en cerdos de Alemania. A partir de los años 60 se produjo una alta incidencia de la enfermedad en EE.UU., comenzando a afectar seriamente en Europa a partir de los años 70 y sobretodo durante los años 80, afectando a numerosos países, principalmente por los cambios en los sistemas de manejo e intensificación de la producción porcina.³

Se encuentra distribuida prácticamente en todo el mundo, afectando a un gran número de países, exceptuando Canadá, Noruega y Australia.¹ La EA afecta a un gran número de animales con consecuencias mortales y se considera que el único reservorio de esta enfermedad son los suínos. Esta enfermedad no se considera una enfermedad zoonótica. La importancia del estudio de la EA es porque causa importantes pérdidas económicas en las explotaciones porcinas, esto se debe fundamentalmente a su rápida diseminación y mecanismos de transmisión,² provocando en hembras reproductivas disminución del tamaño de la camada, abortos y crecimiento lento de los animales y afectaciones respiratoria en cerdos de engorde. Actualmente países de Europa están llevando a cabo programas de vacunación y erradicación, entre ellos España. En Estados Unidos existen estados libres y otros en fase de vacunación y erradicación.¹

En México desde 1995 se vienen desarrollando programas de control y erradicación de la EA, tratando de disminuir la afectación que esta causa a la producción porcina de este país. Debido a que en las zonas enzoóticas de 84 granjas muestreadas se obtuvo una prevalencia del 80% de las crías de las hembras muestreadas, tomando en cuenta que la elevada prevalencia de la EA en este país probablemente fue debida a que no había campaña de control oficial.¹⁸

Con nuestro estudio generaremos información sobre la seroprevalencia de la EA en cerdos, ya que hasta el día de hoy no existe evidencia nacional publicada sobre este problema.

I.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

No existe información sobre la enfermedad de Aujeszky en Nicaragua y en particular en la ciudad de León, pero si sabemos que es una enfermedad de distribución mundial.

Los países de México, Argentina, Colombia y Estados Unidos constituyen un problema de mucha importancia zoonosológica, debido a las relaciones comerciales y la proximidad de estos con Nicaragua, por esta razón es muy importante tener información sobre la prevalencia de la EA. Ya que nos permitirá tomar medidas preventivas o de erradicación si fuese necesario y mejorar las probabilidades de comercializar los productos y subproductos obtenidos del cerdo, con otros países del mundo y así ser más competitivos.

I.2 HIPÓTESIS

No hay diferencia entre la prevalencia esperada con la encontrada.

I.3 JUSTIFICACIÓN

En nuestro país no se tienen referencias concretas de la seroprevalencia de la EA. Además existe casuística nerviosa, respiratoria y reproductiva que no responde al tratamiento con antibióticos. Al realizar este estudio se pretende establecer la prevalencia serológica y proporcionar datos referentes de la EA a las autoridades correspondientes, a los criadores de porcinos del departamento de León y del país y al público en general.

II. OBJETIVOS

II.1 General

✓ Determinar la seroprevalencia de la Enfermedad de Aujeszky, en la población porcina de tres granjas de la ciudad de León, utilizando la técnica de diagnóstico ELISA de captura de anticuerpos.

II.2 Específicos

- ✓ Identificar los animales seropositivos de la Enfermedad de Aujeszky.

- ✓ Identificar en las granjas las condiciones higiénicas sanitarias que permitan minimizar las pérdidas económicas.

- ✓ Contribuir al fortalecimiento del desarrollo sanitario local.

III. MARCO TEÓRICO

III.1 SINÓNIMOS.

Pseudorabia; Prurito rabioso; Escozor maligno.⁸

III.2 CONCEPTO.

La EA es una enfermedad infecto-contagiosa que afecta a múltiples especies animales, con un interés especial en lo relacionado con los porcinos, dado que este es el hospedador natural y transmisor de la enfermedad (padece y transmite);¹⁴ caracterizada por tropismo muy amplio hacia distintos órganos y tejidos, aunque fundamentalmente sobre los sistemas respiratorio, genital y nervioso.⁹

III.3 ETIOLOGÍA.

La EA o pseudorabia **es** causada por el herpesvirus suino -1 (*HVS-1*), pertenece a la subfamilia de los alfavirus de la familia herpesviridae del género Varicellovirus^{1, 2} Los alfa-herpes virus incluyen virus con un rango de huéspedes amplio (como es el caso del virus de la EA).⁵

Otras características biológicas de los alfa-herpesvirus son los ciclos de replicación lítica de menos de 24 horas y la capacidad de establecer infecciones latentes en las células del tejido nervioso, ganglio trigémino y el tejido linfoide de las amígdalas.^{3, 5}

Se conoce un serotipo, pero la virulencia entre cepas es variable. EL virus tiene un marcado neurotropismo, pero en el cerdo que es la especie más adaptada presenta también un tropismo pulmonar y genital.¹² El virus de la EA es una nucleocápside

envuelta que rodea un genoma.⁵ El genoma del virus de la EA tiene aproximadamente 30 veces el tamaño del patógeno a ADN del virus más pequeño conocido (es decir el parvovirus porcino) y es lo suficientemente grande como para codificar alrededor de 100 proteínas.⁵

Se han descrito hasta 11 glicoproteínas virales designadas de acuerdo a la nomenclatura unificada para los herpesvirus. De ellas, cinco son esenciales para la multiplicación del virus, denominadas gB, gD, gH, gK, y gL, y cinco no esenciales denominadas gC, gE, gG, gI y gM. Recientemente se ha identificado una nueva glicoproteína denominada gN. Todas las glicoproteínas con la única excepción de la gG, se encuentran en la envoltura del virión³

Todas las proteínas de la envoltura ejercen su función a diferentes niveles del ciclo replicativo del virus, y controlan diferentes funciones relacionadas con la adherencia, penetración y diseminación del virus, estando también implicadas en la evasión del sistema inmune del huésped. Otra proteína no estructural con actividad enzimática, como la Timidin Kinasa (TK), no es esencial para el crecimiento del virus en cultivos celulares participa en funciones de neurovirulencia, y su delección origina cepas atenuadas.

Algunas glicoproteínas forman complejos estructurales. La delección del complejo gE / gI se traduce en una atenuación de la virulencia, al estar implicado a un nivel anterior al transporte de las nuevas partículas. Debido a esta característica y a sus propiedades inmonogélicas, la gE ha sido una de las glicoproteínas que forman complejos estructurales, es más ha sido una de las glicoproteínas empleadas como marcador en las nuevas vacunas donde la gE está ausente, actuando como marcador antigénico de las infecciones por el virus campo.¹²

El SHV-1 presenta todas las características morfológicas de la familia Herpesviridae. El genoma es una doble cadena de DNA lineal de un peso molecular de 90×10^6 D, compuesto por aproximadamente 73 moles % de guanina + citosina que conforman 150 pares de kilobases.¹³

Este ADN está dividido en dos regiones que se denominan Us, o región corta única y UI o región larga única; la primera está flanqueada por 2 secuencias repetidas interna y terminal -IR y TR. La cápside icosaédrica tiene un tamaño de 105-110 nm y está compuesta por 162 capsómeros que miden 12-13 nm de largo por 9-10 nm de ancho con un conducto central de 4 nm¹³

El tegumento es una estructura proteinacea amorfa situada por fuera de la cápside y por último se encuentra la envoltura, bicapa lipídica derivada de las membranas celulares que contiene las glicoproteínas (gps) codificadas por el virus. Por ser un virus con envoltura, SHV-1 es sensible a los solventes orgánicos, al calor y a la tripsina en forma variable.¹³

La partícula viral completa mide alrededor de 150-180 nm, y presenta además proyecciones de la envoltura de 8-10 nm de largo. El peso molecular del virión es de 70×10^6 D ($0,12 \times 10^{-15}$ g DNA) y su densidad de flotación es de 1,278 g/cm³ en CICs.¹³

Al poseer un rango tan amplio de huéspedes, el SHV-1 puede replicar en muchos sustratos celulares, ya sea cultivos primarios o de línea, y presenta 2 tipos distintos de efecto citopatogénico característico (formación de sincitios y/o redondeamiento celular), muchas veces dependientes de las características de la cepa viral.¹³

Propiedades fisicoquímicas

Inactivantes¹

- De 1 a 7 días a valores de pH menores de 5 ó a pH superior a 9,7.
- El hidróxido sódico (Na OH) al 5%
- Compuestos a base de amonio cuaternario
- Etanol al 70%
- La etilenimina binaria (a 37 °C durante 6 horas)
- Con calor, a 60 °C el virus pierde su infectividad en 30-60 minutos

Desinfectantes¹

- Derivados fenólicos que destruyen el virus en 5 minutos
- Formol y formaldehídos

La virulencia del virus de la Enfermedad de Aujeszky (VEA), esta controlada de forma sinérgica por varios genes, mas precisamente los que codifican las glucoproteínas gE, gD, y TK. Las glucoproteínas gB, gC y gD parecen ser más importantes en lo que respecta a la inducción de la inmunidad.⁵

Esta conclusión se basa en observaciones de los anticuerpos monoclonales que representan múltiples epítomes de la gB neutralizan el virus de la EA in Vitro y también son activos en las pruebas de citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos. Los anticuerpos monoclonales específicos anti gB también confieren inmunidad protectora a ratones infectados experimentalmente con virus de la EA Los anticuerpos monoclonales contra la gC también neutralizan el virus de la EA in Vitro y confiere inmunidad protectora a ratones y cerdos.⁵

Cuando el virus de campo infecta al cerdo, la respuesta inmunitaria frente al virus de Aujeszky va dirigida, tanto frente al virus libre como contra la célula infectada, para combatir la infección.¹

Mecanismos efectores de defensa frente a la infección por VEA.

Principales mecanismos de defensa inespecíficos

- Interferón
- Citotoxicidad natural, mediada por células NK

Principales mecanismos de defensa específicos

- Anticuerpos neutralizantes
- Anticuerpos mediadores de mecanismos de citotoxicidad mediada por células y dependientes del complemento
- Citotoxicidad celular mediada por linfocitos T citotóxicos
- Hipersensibilidad retardada (linfoquinas)¹²

Mecanismo inmunológico de base humoral.

Abarca principalmente la producción de anticuerpos específicos por los Linfocitos B, fundamentalmente anticuerpos neutralizantes e inductores de citotoxicidad (ADCC).

Los anticuerpos que se producen durante la infección actúan a través de distintos mecanismos para impedir la diseminación del virus, por ejemplo:

- Aglutinan el virus para reducir el número de partículas infecciosas.
- Activan la fagocitosis por células del sistema inmune (los macrófagos).
- Neutralizan las partículas virales evitando que el virus pueda entrar en las células (son los llamados anticuerpos neutralizantes), y participan en mecanismos de citotoxicidad celular mediados por anticuerpos.¹²

Las glicoproteínas gC, gD y gB del virus, inducen en el cerdo anticuerpos neutralizantes que protegen frente a la infección.

Mecanismos inmunológicos de base celular

Los linfocitos T juegan un papel fundamental en la respuesta inmune; por un lado en los mecanismos de presentación de antígenos virales a los linfocitos B para la producción de anticuerpos específicos y, por otra parte, como responsables de la inmunidad celular en mecanismos de citotoxicidad para la destrucción de células infectadas.¹²

Producción de citoquinas,

Intervienen en todos los niveles de desarrollo y regulación de la respuesta inmune. Algunas citoquinas como el Interferón (INF), poseen una fuerte actividad antiviral.¹²

Se cultiva en una gran variedad de células; se han utilizado cultivos renales o testiculares de feto o neonato de diversas especies con preferencia de origen porcino, así como líneas celulares HELA y PK-15. Donde provoca un efecto citopático rápido en su presentación y es caracterizado por la presencia de sincitios y redondeamiento celular con rápida destrucción de la célula infectada, al igual que la presencia de cuerpos de inclusión intranucleares como los eosinófilos. Los sincitios los forman fundamentalmente cepas de alta virulencia mientras que el redondeamiento es propio de cepas de baja virulencia.

También se puede cultivar en embrión de pollo, habiendo sido durante mucho tiempo el método mas utilizado para la producción de vacunas.

Diversas especies animales, pero sobre todo el conejo pueden servir como animales de experimentación, habiendo sido este un método de diagnostico muy utilizado años atrás.

III.4 EPIDEMIOLOGIA

El cerdo y el jabalí son el único reservorio conocido del virus, siendo los cerdos enfermos y sobre todo los portadores sanos (Latencia) el autentico reservorio del virus en la naturaleza, es decir la única fuente de virus.¹ En determinadas zonas el jabalí podría actuar como un reservorio ya que se han encontrado prevalencia de hasta el 40% en ciertas poblaciones.

Un hecho importante a tener en cuenta, es la mayor resistencia que ofrece el cerdo a la infección en comparación con otros animales domésticos, observación que intenta

explicar de qué manera se perpetúa el virus, ya que el cerdo adulto difícilmente sucumbe a la enfermedad.¹³

Los cerdos y posiblemente los roedores son los huéspedes primarios del virus. Si bien se han comunicado infecciones en humanos, no hay información suficiente como para considerarla de importancia en salud pública.¹³.

El tráfico directo de personas y ratas desde explotaciones afectadas a otras no afectadas facilita la transmisión de la enfermedad. En las poblaciones vacunadas con infección endémica, es difícil ver animales con sintomatología clínica^{1, 5, 17}

El estado de portador o 'Carrier' es considerado la mayor fuente de infección en piaras debido al fenómeno de latencia, propiedad de los herpesvirus. El virus que permanece en estado latente, lo hace en un tejido específico sin producir manifestación clínica, replicación viral o destrucción celular. Debido a un estímulo, el virus en estado latente, localizado en una célula -generalmente nerviosa- comienza a replicarse y la progenie se dirige por el axón hacia el sitio de infección inicial donde se replica y transmite a los demás animales a través de secreciones.¹³

La reactivación viral está estimulada por muchos mecanismos: estrés, parto, transporte, escasez de alimentos, sobre infección por otros virus, cambio de hábitat, inmunodepresión, exposición a radiaciones ultra violeta y fiebre. Además de la inmunodepresión, la reactivación puede ser inducida por efecto directo de estímulos en las células latentemente infectadas, o por la combinación de ambos.^{13, 17}

El virus de la EA es eliminado por secreciones nasales, orales y se aeroliza en microgotas que son desplazadas por las corrientes de aire a los cerdos susceptibles que se encuentran dentro del mismo espacio aéreo y a los adyacentes; también se transmite por vía transplacentaria y por mucosa vaginal, (semen y leche) ,⁵ por el intestino el virus no suele salir al exterior^{15, 17}

El virus eliminado por las secreciones mucosas puede conservar su poder infectante en lugares sombreados (casetas, porquerizas etc.), desde el otoño hasta la primavera y en cantidades suficientes para producir la infección en cerdos adultos, también puede sobrevivir en los cadáveres en los tejidos con elevado título de partida; por esta razón es un contaminante importante. En la orina, en el purín y otros residuos también se conserva por mucho tiempo, sin embargo por el escaso título de partida del virus estas sustancias no desempeñan un papel importante en el contagio o introducción de la enfermedad.¹⁵

La patogenicidad está limitada a la edad y al periodo de lactación del animal.^{15, 5} también dependerá de la cepa de virus introducida, de las etapas de gestación en la perra de cría, del manejo de los sistemas de aire, agua y alimento^{17, 13}, del mantenimiento sanitario general de la perra y de las prácticas sanitarias que se encuentren en vigencia. Los cerdos que están lactando de cerdas inmunizadas estarán protegidos de la exposición, salvo las muy masivas,^{1,5}.

La morbilidad de la EA puede variar entre unos pocos animales y casi el 100% de los existentes en una explotación, según en que zona haya sido introducido el virus inicialmente y según las posibilidades de contacto directo que existan en la explotación para la transmisión de animal a animal,¹⁵ y dependiendo de la presencia de anticuerpos maternos o no, entonces se podrán infectar teniendo una mortalidad muy alta que puede alcanzar hasta el 100%.¹

Las infecciones naturales de forma directa suele ocurrir por mucosa o lesiones en la piel,⁵ también es un importante contaminante la ingestión de productos contaminados¹⁷ en suinos, bovinos, ovinos, caprinos, caninos y felinos, en animales salvajes como rata, ratón, conejo, venado y zorro y experimentalmente en muchas especies incluidas las aves¹³.

Esta infección da origen a enfermedad neurológica, habitualmente con intenso prurito que se origina en el sitio de inoculación, o en forma indirecta por inhalación de aerosoles que conduce a una enfermedad encefalítica de evolución rápida, pero no eliminan el virus, al ser un estado terminal de un ciclo infeccioso que siempre comienza en el cerdo,⁵ en estas especies la infección por el virus puede llegar en casos excepcionales a producir la enfermedad con un carácter sobre agudo o agudo de curso mortal.¹⁵

La EA ha sido descrita en: Europa, Rusia, América del Sur, Estados Unidos, Nueva Zelanda, Taiwán, Sudeste de Asia, Irán, India, Norte de África y Japón, mientras que Australia, Canadá y Noruega están libres de EA.¹³

Numerosos países de Europa están llevando a cabo programas de vacunación—erradicación, entre ellos España. En EEUU existen estados libres y otros en fases de vacunación—erradicación. En México y Argentina también tienen programas de erradicación.¹⁹

III.5 PATOGENIA

Los herpes virus son patógenos versátiles, tanto individual como colectivamente. Su transmisión esta asociada generalmente con el contacto estrecho de superficies húmedas pero también es frecuente la infección a través de aerosoles. Muchos

alphaherpesvirus producen lesiones localizadas, principalmente de las mucosas de los tractos respiratorios y genital o de la piel, caracterizada por la producción secuencial de vesículas, pústulas y úlceras superficiales que se recubren de una seudomembrana y curan después de 10 – 14 días, normalmente sin que se formen costras.¹⁷

La patogenia es variable, dependiendo de la cepa del virus, de la edad del cerdo, del tamaño del inoculo y de la vía de infección.

Hay cepas de alta, baja y media virulencia, las cepas de baja virulencia no pueden producir signos clínicos en animales adultos, debido a que el cerdo aumenta la resistencia a desarrollar síntomas clínicos con la edad⁵. Este tipo de cepas de baja virulencia sólo provocan enfermedad en lechones de pocas semanas y no son capaces de dar lugar a una viremia.¹⁵ La replicación vírica puede estar limitada localmente al sitio de introducción. En general todas las cepas mantienen tropismo por el SNC y por las vías respiratorias, pero no todas provocan síntomas clínicos⁵.

Por el contrario las cepas de alta virulencia si que pueden provocar viremia y afectan a macrófagos alveolares lo que causa una disminución de la capacidad de defensa frente a otras infecciones respiratorias, epitelio bronquial, hepatocitos y embriones.¹⁵

En lechones jóvenes la multiplicación del virus se da tan rápida y masivamente que, ya al día siguiente del contagio se alcanzan títulos de 10^6 - 10^8 DI₅₀ de cultivo/gramo de tejido en los epitelios del espacio nasofaríngeo.¹⁶

La infección primaria del virus se da a través de la cavidad oral o intranasal¹⁷, desarrollándose una primera replicación del virus en la orofaringe y amígdala^{5, 17}. A partir de estos sitios sucede la diseminación linfática a los ganglios linfáticos regionales con replicación en los ganglios. El VEA también se disemina vía nerviosa a partir del sitio primario de infección hacia el sistema nervioso central (SNC), donde se multiplica intensamente dando lugar a una mielitis y meningoencefalitis no purulenta. En todas las demás especies animales esta multiplicación primaria del virus en el punto de penetración es mucho más escasa, por ser aquél en ellas característicamente neurotrofo¹⁵

Esta diseminación se da por medio del axoplasma del nervio trigémino hacia el bulbo y protuberancia y la diseminación por los nervios olfatorios y el glosofaríngeo hacia el bulbo. Después de la replicación en neuronas del bulbo y protuberancia, pueden diseminarse hacia otras partes del cerebro.⁵

Luego, si el animal sobrevive lo suficiente, hay difusión centrífuga al resto del organismo dándose una segunda replicación viral y produciendo clínicamente los síntomas generales de una enfermedad septicémica¹⁵

Por medio de aerosoles, llega hasta los pulmones, allí los macrófagos alveolares son los más susceptibles, lo que lleva a infecciones secundarias. Hay diseminación a ganglios linfáticos regionales y viremia breve como consecuencia de la infección de células blancas, especialmente monocitos y linfocitos T, las cuales llegan a diferentes lugares del organismo como por ejemplo, epitelio bronquial, bazo, ganglios, hepatocitos y el útero grávido .

Cuando llega al útero grávido, el virus atraviesa la placenta, actuando sobre el embrión o feto según sea el momento de la gestación, provocando muerte embrionaria o fetal con reabsorción y momificación si se produce en los primeros estadios y sobre todo aborto si se produce en el segundo o tercer tercio de la gestación.

La eliminación del virus comienza a partir de las 24 hrs. de la infección y alcanza un pico de concentración a los 3-6 días. La excreción del virus se produce durante aproximadamente 17 días por infecciones nasales, 12 días por infecciones vaginales y prepuciales, y 3 días por leche y saliva. La eliminación luego de la reactivación de la infección latente, es de menor duración y de menor título que la infección inicial.¹

III.6 CUADRO CLÍNICO

Los signos clínicos en cerdos son diferentes a los observados en otras especies, razón por la cual los signos clínicos asociados a la enfermedad de Aujeszky dependen de tres factores fundamentales: la cepa del virus, la dosis infectante y la edad del animal.¹

En los primeros informes de la enfermedad se considero que estos animales no enfermaban ¹³. Probablemente la diferencia más notoria está en el prurito: se ha demostrado que en la mayoría de las especies susceptibles se desarrolla un intenso prurito en partes localizadas del cuerpo, tales como ollares, mejillas o cadera en bovinos, o bien flancos o nuca en conejos o ratones. En la mayoría de los casos estos lugares coinciden con los sitios de inoculación del virus pero en otras ocasiones es el producto de la diseminación viral hacia sitios periféricos .En cerdos en contraste, la presentación de prurito es considerada como un signo ocasional y excepcional ¹³.

Tal como ocurre con muchas otras infecciones causadas por Herpes virus, la morbilidad y la mortalidad de la infección disminuye con la edad así como con los trastornos causados por el virus en los animales infectados ¹¹. De tal forma, que resulta conveniente hacer una diferenciación de los animales por edades para establecer con mayor precisión las manifestaciones clínicas de la enfermedad.

✓ Cerdos en crecimiento

Entre los 2 y 4 meses de edad los cerdos están en una etapa intermedia en la cual las manifestaciones clínicas de la enfermedad son más claras que en los adultos y el curso no es tan agudo como en los pequeños, por lo tanto es en animales de esta edad donde se puede establecer el curso y evolución de la enfermedad.

Existen informes de brotes de campo en donde se observo: incremento de la temperatura aproximadamente 40.5 ° C, notable descenso en el consumo de alimentos, tos, estornudos, descarga nasal y salivación excesiva en algunos.

Animales, así como también dificultad para respirar. En cuanto a signos nerviosos se observaron espasmos masticatorios y movimientos involuntarios de la cabeza hacia algunos de los lados, otros animales muestran el cuello rígido y caminar en círculo. La observación cuidadosa de los animales

Permitió apreciar en ellos, un comportamiento extraño, sin un patrón determinado; algunos permanecían quietos y con una respuesta disminuida a los estímulos mientras que otros se muestran excitados y corren sin explicación alguna. Vomito y diarrea se observan solo ocasionalmente ¹¹. Es un hecho que las manifestaciones del daño del sistema nervioso central son variables inclusive entre animales del mismo grupo.

Se han descrito cuadros de: posición de perro sentado, opistótonos, parálisis, agresividad contra objetos inanimados, postración con y sin movimientos de pataleo así como dificultad para mantenerse en pie ¹¹.

Utilizando el recurso de infecciones, experimentales ha sido posible establecer la secuencia de la enfermedad. Los primeros signos se observan 30 horas después de haberse infectado el animal y estos son; tos, estornudos y fiebre moderada. La fiebre se incrementa en el periodo comprendido entre las 48 y 72 horas, además se observo constipación. Posteriormente se observó: salivación excesiva, vómito en algunos animales, depresión y espasmos musculares espontáneos.

A partir de las 96 horas después de la infección. Se hace notable el daño del sistema nervioso central, se observan convulsiones, pérdida de balance y pataleo incontenible. Después de 144 de iniciada la infección los animales presentan coma y finalmente mueren ¹¹.

✓ Cerdos lactantes

Este grupo es el que presenta el índice más alto de mortalidad, especialmente en los casos de animales totalmente susceptible a la enfermedad. Existen variaciones en los índices de morbilidad y mortalidad determinadas por la presencia de elementos de protección de origen materno en los lechones. En los casos fatales los signos observados son dificultad para respirar, fiebre, salivación excesiva, anorexia, temblores, depresión, ataxia, convulsiones, coma, muerte ¹¹. Se ha informado que en algunos Casos el curso de la enfermedad están agudo que algunos o la totalidad de los signo son apreciados ¹³.

✓ Cerdos en finalización

Existen informes de brotes de enfermedad de Aujeszky, en engordaderos de cerdos, en que los signos más notables fueron fiebre, constipación, vómito, apatía y signos respiratorios ¹⁰ en los que en general, la morbilidad y mortalidad fueron bajas, con unos cuantos animales que mostraron parálisis y muerte. El principal problema en estos casos es el aumento de los días al mercado, que ocurre en estos cerdos, debido a la baja en el consumo de alimento. Algunos autores mencionan que en esta clase de animales, es posible distinguir dos tipos de cuadro clínico: cerdos con daños notables en el SNC que incluso llegan a presentar parálisis y cerdos que muestran simplemente apatía, salivación excesiva y rechinar de dientes ¹¹. Debe mencionarse que en granjas de engorde con flujo continuo éste puede ser un problema recurrente puesto que los animales recuperados pueden infectar a los animales susceptibles y la ausencia de signos claros dificulta la detección del problema. Se considera que la presencia de conjuntivitis, lo cual es un signo que solo en ocasiones se presenta en los cuadros

agudos, puede representar ayuda en el diagnóstico de la infección en cerdos en finalización¹⁰.

✓ Animales reproductores

La infección en animales reproductores puede representar la forma más costosa de la enfermedad. Los signos clínicos son los mismos que fueron descritos para cerdos en finalización: pero el efecto en la reproducción incluye una baja en la fertilidad de los machos por el efecto de la fiebre y la apatía. Además, en cerdas puede presentarse reabsorción de embriones, abortos, momificaciones o nacimiento de lechones débiles¹¹.

Los efectos sobre los animales dentro del útero dependerán del momento de la gestación en el cual ocurre la infección. La fase embrionaria se considera hasta el día 40 luego de la fecundación; en tal caso la consecuencia de la infección será la reabsorción de los embriones muertos, a los 40 días ya existen estructuras óseas en los fetos y de sufrir la infección morirán y serán abortados cuando toda la camada o su mayoría sufrió la infección, o bien los fetos afectados serán expulsados momificados, al final de la gestación.

Cuando la infección ocurre durante el último tercio de la gestación la posibilidad de aborto disminuye y se presentan camadas de momias o camadas con momias y lechones vivos. Las pérdidas no terminan con las camadas que no llegan a término puesto que la existencia de lechones débiles afecta al número de animales destetados por cerda. Además de lo descrito, se considera que una secuela de infección puede ser una considerable baja en la producción de leche y en algunos casos llega a agotarse¹⁰.

Está también ampliamente demostrado que la transmisión transplacentaria del virus es un hecho que no siempre ocurre, incluso se ha postulado que esta puede ser una característica de algunas cepas virales ¹⁰. Pero también es un hecho comprobable que este fenómeno no es requisito para que la infección cause grandes pérdidas puesto que los efectos de la infección en la cerdas tales como: anorexia, postración, etc., son suficientes para ocasionar la muerte de algunos fetos o bien obstaculizar el desarrollo, produciendo en consecuencia, mortinatos o lechones débiles. De acuerdo con algunos autores el mayor porcentaje del total de pérdidas ocasionadas por un brote en animales reproductores, está en la pérdida de camadas enteras de lechones menores de 4 semanas ¹¹.

Esto sucede como consecuencia de la distribución irregular de la infección en grupos de cerdas gestantes. Las cerdas que sufren de infección en los últimos días de la gestación, llegan a término en la forma esperada, pero no poseerán anticuerpos contra el virus en el calostro y la camada será totalmente susceptible a la infección. Asimismo ocurre con las camadas que nacen de cerdas que no sufrieron la infección: pero en la maternidad se infecta la camada.

Está demostrado que la principal fuente de infección para los lechones es la cerda infectada. Se ha observado excreción viral en leche aunque ésta haya sido inconstante y de bajos títulos virales, probablemente las secreciones nasales y vaginales tienen mayor relevancia como fuentes de infección. La importancia de los anticuerpos maternos que el lechón obtiene con el calostro, ha sido comprobada en repetidas ocasiones, y en casos de campo se observó que los sobrevivientes de una camada infectada fueron aquellos que tenían altos títulos de anticuerpos. En forma experimental se estableció que existe un nivel de anticuerpos mínimo a partir del cual los lechones estarán protegidos contra una infección natural o experimental. La duración de esta protección estará en relación al título original de anticuerpos en el calostro ¹⁰.

Lesiones

Lesiones macroscópicas

Las lesiones macroscópicas no son frecuentes y suelen ser comunes a las halladas en otras infecciones por herpesvirus, como los focos de necrosis en distintos órganos, además de los abortos, que aunque no son patognomónicos de Enfermedad de Aujeszky, sí son suficientemente característicos como para establecer una sospecha clínica ¹⁹. En general, los animales jóvenes, lactantes o recién destetados, presentan lesiones más claras que los animales adultos¹⁰.

Las lesiones están ausentes o son mínimas y no detectables, especialmente en la forma nerviosa. Si están presentes ayudan al diagnóstico cuando se combinan con la anamnesis y los signos clínicos. Hay rinitis serosa o sero-fibrinosa que puede pasar desapercibida si no se abre la cabeza. Las lesiones se pueden extender a la faringe, tráquea. Los ganglios regionales están hinchados y hemorrágicos. Las lesiones pulmonares varían desde edema pulmonar a pequeños focos de necrosis, hemorragias y neumonía. Frecuentemente se observa una queratoconjuntivitis³. También es necesario recordar que casos de campo la enfermedad se puede complicar con neumonía secundaria de origen bacteriano ¹⁰.

Las lesiones más características son los focos de necrosis que a veces se pueden observar en hígado y bazo, a modo de pequeños puntos de color muy pálido. Son mucho más frecuentes en cerdos que no tienen inmunidad pasiva ³. A si mismo se ha señalado la presencia de petequias en riñón y glándulas adrenales ¹⁰.

Las cerdas recién abortadas presentan una endometritis catarral con engrosamiento de la Pared del útero. Los fetos abortados pueden aparecer frescos, macerados o parcialmente momificados. En fetos o cerdos neonatos infectados no son frecuente los focos de necrosis pero.

Cuando se presentan. Son muy sugestivos de esta enfermedad en verracos se puede observar un ligero aumento de la bolsa testicular debido a un edema escrotal ³.

Lesiones microscópicas

La lesión del SNC persisten durante muchas semanas (de 12 a 24 semanas post infección) incluso en infecciones inaparentes, pero pueden faltar en fetos abortados ³. Se desarrolla una meningoencefalitis y ganglioneuritis no supurativa, estando afectadas tanto la materia gris como la blanca¹ y su distribución depende de la vía de entrada del virus en el SNC ³. Predominan las células mononucleares formando manguitos perivasculares y nódulos gliales. Se produce también necrosis neuronal focal o difusa e infiltración mononuclear en las meninges. Se detectan cuerpos de inclusión intranucleares en neuronas, astrositos, oligodendroglía¹ y también se pueden encontrar en células de Purkinje en el cerebelo que son importante para de diferenciación del padecimiento de otras encefalitis; pero no son un hallazgo constante ¹⁰.

En tonsilas, la necrosis comienza en las áreas subepitelales y se extiende al epitelio y tejido linfóide ³. Los sitios más ideales para buscar las lesiones son la región dorsal del tallo encefálico cerca del acueducto cerebral y los ventrículos ¹⁰.

Las lesiones en el aparato respiratorio son; necrosis del epitelio e infiltraciones de células inflamatorias en la submucosa de las vías de conducción superiores; se observan focos necróticos con grados variables de destrucción en mucosa nasal y faringe ¹⁰, también bronquitis, bronquiolitis y alveolitis necrótica en los pulmones ³. En los casos de infección con cepas con habilidad para replicarse e pulmón se han descrito necrosis pulmonar masiva y diseminada, así como también cambios exudativos severos, cuerpo de inclusión en las células epiteliales de todos los pasajes aéreos e incluso exudado fibrinoso en alvéolos ¹⁰. Se acompaña de edema ³.

Los focos de necrosis están rodeados por escasas células inflamatorias o estas últimas están ausentes. Son más frecuentes en hígado, bazo, ganglios linfáticos y glándulas adrenales, pero también pueden observarse en otros órganos³.

La infección uterina se caracteriza por endometritis y vaginitis linfocitaria y placentitis necrótica, mientras que en los verracos hay una periorquitis exudativa con lesiones necróticas e inflamatorias en la túnica albugínea. Hay degeneración del epitelio de los túbulos³.

III.7 DIAGNÓSTICO

Diagnóstico Clínico

El diagnóstico clínico de la Enfermedad de Aujeszky puede ser inaparente o ser dificultoso a nivel individual a excepción de los animales jóvenes menores de tres semanas de edad que presentan alteraciones nerviosas. En cerdos adultos los signos clínicos generalmente son leves y transitorios.¹⁰ Aunque se puede diagnosticar cuando se presenta un conjunto de síntomas característicos de esta enfermedad, entre estos tenemos:

- Alta mortalidad en lechones menores de tres semanas específicamente por alteraciones nerviosas.
- En los animales en período de ceba con presencia de alteraciones respiratorias
- En las hembras gestantes presencia de abortos; mortinatos y momificaciones.²⁰

La mortalidad de los animales infectados será indirectamente proporcional a la edad de éstos. En algunas ocasiones, los exámenes post-mortem pueden complementar el diagnóstico, así como también la muerte de perros que consumieron vísceras de animales que murieron a causa de esta enfermedad. ¹⁰

Diagnóstico de Laboratorio

Existe un gran número de metodologías específicas para el diagnóstico de la EA. Este diagnóstico está basado, como en la mayoría de las enfermedades víricas, en el aislamiento e identificación del virus, mediante la detección de antígenos o del ácido nucleico viral, o en la determinación de la presencia de anticuerpos específicos en el suero o fluidos orgánicos.^{3,20}

Entre las muestras a remitir al laboratorio tenemos:

- Sangre con anticoagulante
- Sangre sin anticoagulante (Suero)
- Amígdalas
- Cerebro
- Ganglio Trigémico
- Medula Espinal
- Bazo

Laboratorial Directo

Aislamiento del virus (AV)

Las muestras se tienen que tomar de animales que muestren signos clínicos de la enfermedad. Si aparecen animales adultos que hayan sido afectados con la EA pueden emplearse muestras de hisopados nasales recogidos en medio de cultivos tamponados con antibióticos o solución salina estéril.²⁰ Como animal de experimentación ideal se emplea el conejo, desde la demostración por Aujeszky (1902) por su elevada receptividad.

La Administración de las Células PK15 le provoca la muerte a los conejos de 2-4 días presentando una gran excitación con manifestaciones encefalíticas y prurito local muy intenso en el punto de inoculación ya sea por vía intramuscular o subcutánea³. La utilización de los conejos para el aislamiento viral se considera una práctica inhumana solo justificable en aquellos casos extremos en los que no se cuenta con ningún otro método.

Se recomienda el uso de cultivos celulares, puesto que está demostrado que la sensibilidad de éstos, es superior o similar a la de los conejos¹⁰ y por su sencillez se practica en la mayoría de los laboratorios de diagnóstico veterinario¹⁵. También se emplean ratones blancos a los que se les inocula el material sospechoso por vía intracerebral.

Se puede utilizar para la multiplicación del virus cultivos primarios de embrión de pollo, testículos de ternero, Riñón de ternero, Riñón de cerdo y Riñón de conejo¹⁵. El éxito del aislamiento viral depende de que exista una cantidad importante de partículas virales

infectantes en los tejidos seleccionados por lo cual es requisito indispensable un manejo adecuado de la muestra, evitar descomposición, contaminación bacteriana, etc.²⁰.

Detección de Antígenos Virales

Entre las técnicas más utilizadas para la detección de antígenos virales de EA tenemos:

Inmunofluorescencia Directa (IFD)

Se realiza a partir de cortes o impronta de tejidos de animales sospechosos. La muestra de elección son las amígdalas, aunque también pueden emplearse muestras de cerebro o improntas faríngeas. Esta técnica tiene la ventaja de ofrecer los resultados en una hora y los resultados en el caso de muestras procedentes de lechones recién nacidos con síntomas clínicos son comparables a los obtenidos por aislamiento vírico (AV). Cuando las muestras proceden de animales adultos la sensibilidad de la IFD es muy inferior al AV, por lo que si el historial clínico y datos epidemiológicos sugieren la presencia del Virus de EA, un resultado negativo de IFD en animales adultos debe confirmarse siempre mediante AV.^{3, 10,20}

Inmunohistoquímica Directa e Indirecta

Las técnicas de Inmunohistoquímica en sus modalidades directa o indirecta permiten la detección de antígenos virales en las fases agudas de infección. Se aplican de forma similar a la IFD generalmente sobre tejidos previamente fijados e incluidos en parafina, siendo el revelado realizado con un complejo de peroxidasa-anti-peroxidasa, o de

avidina-peroxidasa. El proceso, sin embargo es algo más complicado y requiere más tiempo.

Su ventaja radica en que permite localizar y distinguir las lesiones propias producidas por el Virus de EA, de aquellas producidas por otros patógenos secundarios.^{3, 10,20}

Técnica de IPMA (Immunoperoxidase monolayer assay)

Esta técnica se basa en un ensayo de inoculación de células susceptibles con el material sospechoso e inmunorreacción con un suero específico anti-VEA. Esto permite la detección específica del virus sobre los cultivos infectados. Es muy sensible y permite obtener un resultado en dos días.^{3, 10, 20}

Detección del Acido Nucleíco Viral

Técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Esta se basa en la amplificación, y posterior visualización, de un fragmento específico del genoma del virus, a partir de la muestra enviada al laboratorio.

Es una técnica de sensibilidad muy elevada, que detecta cantidades mínimas de ADN del agente infeccioso en cualquier tipo de muestra y tejidos del animal en tan solo unas horas, estadios muy tempranos, o incluso cuando la infección esta ya establecida, en presencia de elevados niveles de anticuerpos neutralizantes. La PCR ofrece también la posibilidad de analizar muestras donde el virus ya no se encuentre viable o sea difícil

realizar su aislamiento, como el semen. Esto es muy importante debido al empleo generalizado de la inseminación artificial y de la implicación del semen en la transmisión del VEA.

El empleo de la PCR para la detección del VEA ofrece además importantes ventajas, ya que permite detectar el virus en estado latente, donde no se expresan antígenos virales, por lo que la PCR es la única vía para poner de manifiesto la presencia del virus latente en el animal. Mediante esta técnica es posible saber si el virus presente en el animal procede de vacunas marcadas o se trata de un virus campo. Esto a través de polímeros específicos de una región del gen que codifica para la glicoproteína gE.¹⁰

Laboratorial Indirecto

Detección de Anticuerpos

Otro tipo de diagnóstico es la detección de Anticuerpos Específicos en el suero de animales convalecientes.

Este es también el medio ideal para detectar animales infectados aun en ausencia de signos clínicos.

Las pruebas serológicas permiten realizar estudios sobre la prevalencia del virus en las explotaciones porcinas, sobre todo la dinámica de circulación del virus campo, pudiendo evaluar los métodos de manejo más idóneos para conseguir minimizar la difusión del virus. Los estudios serológicos son también de gran utilidad para el control de las reposiciones, la adecuación y el seguimiento de los programas vacúnales y la evaluación de la capacidad inmunológica de las poblaciones vacunadas.

Existe un gran número de metodologías para la detección de Anticuerpos Específicos frente a VEA. Entre las más utilizadas tenemos.¹⁰

Técnica de Sueroneutralización

Esta se basa en la detección de anticuerpos neutralizantes frente al virus de la EA, que son producidos por las glicoproteínas gB, gC y gD. Estas glicoproteínas están presentes en todas las cepas de los virus de campo, así como las cepas de vacunas vivas atenuadas, y prácticamente en todas las vacunas inactivadas (con excepción de vacunas de subunidades, pero que siempre contienen algunas de estas glicoproteínas)²⁰.

No obstante hay que tener en cuenta que el análisis de los sueros que proceden de animales vacunados también darán una reacción positiva, por lo que la técnica de sueroneutralización no puede emplearse en áreas o regiones sometidas a programas de vacunación. Sin embargo, es muy útil para la confirmación de casos positivos en lugares no sometidos a programas vacúnales. A través de esta técnica se detectan animales positivos a partir del 8-10 días post-infección (dpi). Está considerada como la técnica de referencia para la detección de anticuerpos del VEA.^{3, 20}.

Técnica de Inmunodifusión en Gel

Esta prueba se basa en la reacción antígeno-anticuerpo que se visualiza en la franja que aparece donde se lleva a cabo la precipitación de tales complejos luego que los elementos de la reacción se difundan a través del gel. Esta prueba se considera ideal

para detectar animales positivos en una población, ya que es más fácil y menos costosa que la prueba de sueroneutralización. Los inconvenientes son que tienen una sensibilidad menor y que no proporciona títulos.¹⁰

Fijación del Complemento

Esta prueba es muy específica, pero no es muy usada por los problemas que presenta el suero del cerdo ya que causa hemólisis.¹⁰

Técnica de ELISA

Es la técnica serológica más utilizada por su alta sensibilidad (99.5%) y especificidad (99.5%), además es una técnica rápida ya que se pueden realizar en pocas horas estudios sobre grandes poblaciones de manera rápida, sencilla y económica. Se han desarrollado diferentes métodos de ELISA, de tipo indirecto, de bloqueo o competición.

En general, todos se correlacionan bien con la técnica de Virus neutralización, siendo incluso algo más sensible que este último, ya que permiten detectar un mayor espectro de anticuerpos, que incluye los anticuerpos no neutralizantes, y sueros débilmente positivos. En el caso de lechones, la interpretación de resultados puede complicarse debido a la presencia de anticuerpos maternos en el suero.^{3,7}

En los países que actualmente están llevando a cabo programas de vacunación-erradicación con vacunas gE-, como España, solo es posible aplicar técnicas de ELISA diferencial, única metodología capaz de discriminar entre una respuesta de anticuerpos producidos por vacunación o por infección.²⁰

Algunos test comerciales ofrecen la posibilidad de analizar la respuesta serológica frente a otra proteína muy inmunogénica y esencial del virus, la glicoproteína gB, presente tanto en el virus de campo como en las vacunas marcadas vivas e inactivadas gE actuales, permitiendo obtener información adicional sobre el estado inmunológico de los animales vacunados.²⁰

Se pueden presentar algunos problemas a la hora de la interpretación de los resultados, presentándose falsos positivos o falsos negativos. Esta técnica presenta algunas ventajas y desventajas de las cuales tenemos:

Ventajas

- Los reactivos marcados con enzima son de alta estabilidad.
- Permite una completa automatización.
- Los resultados son objetivos y pueden ser cuantificados por un espectrofotómetro.
- Los Ag o Ac marcados con enzima pueden ser manejados en condiciones normales de laboratorio.

Desventajas

- Diferente afinidad del Ag para adherirse a la fase sólida
- Presencia de reacciones no específicas.

- El método que se utilizó para la realización de este estudio es el Kit para la detección de anticuerpos anti-gpl del virus de la enfermedad de Aujeszky (Herdchek Anti-ADV gpl).

Perfiles Serológicos

Los Perfiles Serológicos permiten de forma sencilla realizar estudios sobre la prevalencia del virus en las explotaciones y su dinámica de circulación, así como el seguimiento de los programas vacúnales. Los perfiles serológicos permiten evaluar qué métodos de manejo, son los más adecuados para conseguir minimizar la difusión del virus. También representan un importante medio para aumentar el control sanitario y reducir las pérdidas ocasionadas por un estado sanitario deficiente.²⁰

Estos tienen como objetivo: Aumentar el control sanitario, elección del momento más indicado para la primera vacunación de los lechones.²⁰

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Debido a la variedad de formas clínicas que presenta la Enfermedad de Aujeszky existen un gran número de enfermedades cuyos signos clínicos pueden ser compatibles con ésta enfermedad.

Entre las enfermedades más significativas que cursan con trastornos de tipo nervioso y que pueden ser confundidas con la Enfermedad de Aujeszky están la Meningitis estreptocócica, Enfermedad de Teschen-Talfan, Encéfalomiocarditis, Enfermedad de

los edemas, Rabia, PPC, Toxoplasmosis, Listeriosis, Meningoencefalitis por *H. parasuis*, Salmonelosis, Clostridiosis, Circovirus y las intoxicaciones por sal, mercurio y arsénico.²¹

En caso de observación de trastornos de tipo respiratorio, sería conveniente realizar diagnóstico diferencial con la Influenza porcina, PRRS, Neumonía enzoótica, *Actinobacillus pleuroneumoniae*, Pasterelosis neumónica, *Streptococcus suis*, *Bordetella bronchiseptica*, Infección por *M. hyorhinis*, Salmonelosis, Clostridiosis, Toxoplasmosis, Listeriosis y Rabia.²¹

En caso de observación de trastornos en la reproducción, el diagnóstico diferencial se realizaría con, Leptospirosis, Parvovirus, Erisipela, Influenza tipo A, Adenovirus, Brucelosis, Clamidiosis, Citomegalovirus, Reovirus, y Enterovirus Diferencial.²¹

III.8 TRATAMIENTO

Las posibilidades terapéuticas contra la EA son, como en todas las enfermedades víricas, muy limitadas. Como sólo raramente se producen infecciones bacterianas secundarias no es necesaria por lo general la aplicación de antibióticos. Con el tratamiento inespecífico de las manifestaciones de excitación pueden conseguirse en el cerdo algunos éxitos. También la vitamina B1 tiene un efecto favorable.¹⁵

III.9 CONTROL, PREVENCIÓN Y PROFILAXIS

Evitar la entrada de la EA en las regiones o países y en los sistemas de producción integrados desde su nacimiento hasta el finalizado, constituye una situación ideal para alcanzar y mantener la condición de explotación libre de EA y evitar de este modo los costos de las pérdidas producidas por esta y los problemas asociados por la vacunación.¹⁷

Para mantener las explotaciones libres de la enfermedad, también es importante mantener una buena higiene, limpieza y desinfección tanto de las instalaciones como de los cerdos en las granjas e incrementar las medidas de bioseguridad. Pero sobre todo debemos tener en cuenta el registro sanitario de los animales de reposición, no admitiendo el ingreso a la granja de animales serológicamente positivos a la EA. Aquí se incluye el sistema todo dentro todo fuera, para una mejor seguridad sanitaria de la piara.¹⁰

En los países que tienen programas de erradicación el traslado de los cerdos es permitido únicamente al obtener un análisis serológico negativo realizado por laboratorios autorizados y siguiendo protocolos establecido.¹⁷

Los programas de control deben estar regulados por las instituciones correspondientes a nivel nacional, estatal, departamental, regional y local. La declaración de la EA es de carácter obligatorio.¹⁶

Para los países, zonas y granjas donde la enfermedad es endémica, las medidas de control son la práctica de la vacunación o erradicación, vigilancia epidemiológica, control de la reposición y restricción al movimiento de animales.

La experiencia de muchos países indica que la elección para la mejor estrategia de control, debe hacerse considerando factores tales como: porcentaje de reactores positivos, finalidad de las explotaciones, fuente original de la infección, posibilidades reales de eliminación gradual de los portadores. Pero también es recomendable conocer la situación zoonosanitaria de las granjas vecinas más cercanas a la que esta en estudio ^{10, 21}.

Cuando se comprueba la existencia de un brote de la enfermedad en una explotación, lo primero que debe realizarse es intentar detenerlo tan rápidamente como sea posible. Esto se logra por lo general en el plazo de 6 a 8 semanas cuando se han creados las condiciones necesarias para impedir la transmisión de la enfermedad de un animal a otro y evitar las infecciones que puedan venir del medio ambiente inmediato. ¹⁵

Resulta de importancia decisiva a tal fin el aislamiento de prados y parques, evitar traslados innecesarios, mantener los animales en pequeños grupos, realizar desinfecciones intermedias, disponer de zonas de trabajos delimitadas y esmerarse en las tareas generales de orden y sanidad. ¹⁵

Las granjas de engorde deben organizarse para sus ingresos de ganado según el principio limpio/sucio. En los brotes clínicos se puede recurrir a la inmunización activa del efectivo, debiendo incluirse su acción entre las medidas de saneamiento. ¹⁵

Después de realizar una doble vacunación activa, que es lo corriente, se forman anticuerpos neutralizantes por lo general con títulos bajos, pero que no pueden diferenciarse de los títulos consecuentes a infecciones. Tras las vacunaciones repetidas, el valor de los títulos alcanza también la cifra media de las infecciones con virus de campo.¹⁵

La vacunación de los cerdos en las zonas donde el virus es endémico disminuye la severidad de los signos clínicos de la enfermedad, como la mortalidad y la pérdida de peso y por lo tanto las pérdidas económicas, utilizando en la actualidad tanto vacunas atenuadas como inactivas.¹⁰

Ninguna de ellas evita la infección o el establecimiento de infecciones latentes por parte del virus de la EA virulento. Raramente se practica vacunación de los hospedadores secundarios debido a la incidencia esporádica de la enfermedad.¹⁷

El empleo de programas de vacunación frente a la Enfermedad de Aujeszky está jugando un papel fundamental en los programas de erradicación que se vienen realizando en los últimos años en un gran número de países de la UE y del continente americano. Estos programas están empleando vacunas marcadas atenuadas e inactivadas, que han sustituido a las vacunas convencionales y permiten diferenciar los animales vacunados de los infectados.¹

A partir de la década de los 40 comenzaron a utilizarse las primeras vacunas vivas frente a la enfermedad de Aujeszky. A éstas vacunas le siguieron otras que empleaban cepas atenuadas por pases en cultivos celulares. De ellas las más destacadas fueron

las cepas Bartha K/61, Bucarest y sus derivadas, NIA-4 y Alfort 26, así como mutantes inducidos químicamente MK-25 y MK-35.^{1,3}

A mediados de los años 80 comienzan a utilizarse técnicas de ADN recombinante para conseguir nuevas cepas atenuadas mediante la inactivación, modificación y eliminación de genes implicados en la virulencia del virus, y de genes que codifican para algunas glicoproteínas estructurales y no estructurales de ADV, lo que ha conducido al desarrollo de las vacunas marcadas.^{1,3}

Se han utilizado una amplia gama de vacunas marcadas obtenidas por ingeniería genética, que no expresan alguna de las glicoproteínas del virus, gE, gG ó gC, al igual que otras proteínas como la TK, la glicoproteína ausente en la cepa vacunal, actúa como marcadores antigénicos de las infecciones de campo. Sólo los animales infectados (o vacunados con vacunas convencionales) presentan anticuerpos específicos frente a este tipo de vacunas.^{1,3}

Actualmente las vacunas marcadas gE- son las que se han impuesto a nivel mundial, principalmente por sus características inmunológicas, por los niveles de sensibilidad y especificidad de los test diferenciales de diagnósticos desarrollados, y por los éxitos conseguidos de su amplia utilización en el campo.³

Importancia del marcador gE

- El marcador de infección, es decir la glicoproteína gE, se encuentra presente en todas las cepas de virus de campo estudiados.

- La aparición de los anticuerpos específicos anti-gE en los animales infectados por el virus de campo se produce a partir del día 7 post-infección, y persisten más de un año y probablemente toda la vida del animal.
- Se dispone de técnicas de diagnóstico, tipo ELISA, altamente sensibles y específicas, que permiten diferenciar los animales vacunados con vacunas gE negativas de los infectados.¹

Tipos de Vacunas gE

Vacunas vivas atenuadas gE-

El virus presente en las vacunas es un virus vivo atenuado, es decir infecta al cerdo y se replica en él, sin provocar síntomas clínicos. Los principales inmunógenos vacunales empleados actualmente en las vacunas comerciales se pueden clasificar según como se haya producido la delección del gen.¹

- De forma natural: como en el caso de las cepas Bartha K/61 y NIA-4.
- Por técnicas de ingeniería genética: las principales son: NIA3-783 [gE-/TK], la cepa Begonia, [gE-/TK-], y la cepa Alfort 26 [gE-].

Vacunas inactivadas gE-

En la actualidad las vacunas inactivadas preparadas a partir de cepas que no expresan la glicoproteína gE y las vacunas de subunidades han sustituido a las vacunas convencionales preparadas a partir de cepas virulentas. La mayoría de ellas contienen adyuvantes oleosos, aunque están apareciendo nuevas vacunas eficaces con

adyuvantes acuosos, que evitan las posibles reacciones adversas en el punto de inoculación.³

➤ Las vacunas inactivadas emplean como inmunógenos las mismas cepas delecionadas de forma natural o por Ingeniería genética, pero son inactivadas posteriormente.

➤ Entre los principales inmunógenos que se están empleando actualmente se destacan las cepas de virus inactivado delecionadas de forma natural Bartha K/61, NIA-4 y Bucarest, así como las cepas modificadas genéticamente NIA3- 783 [gE-/TK-], y Phylaxia [gE-].

Otro tipo de vacunas inactivadas descritas están basadas en el empleo de una o varias glicoproteínas del virus. Son las denominadas vacunas de subunidades.¹

Los cerdos vacunados que posteriormente se infectan tienen menor invasión tisular, la que suele limitarse al sistema respiratorio superior y no transmite virus al feto en el útero. Los cerdos vacunados eliminan menos cantidades de virus; en la mayor parte de los estudios se ha comprobado que excretan aproximadamente 1000 veces menos y durante periodos menos prolongados que los que no han sido vacunados.⁶

El empleo de vacunas marcadas vivas o inactivadas genera mecanismos de inmunidad frente a la infección por ADV que inducen protección. Sin embargo, los niveles y el tipo de mecanismos efectores inducidos son diferentes. Estas diferencias están relacionadas con una mayor eficacia en cuanto a la generación de niveles óptimos de protección, referido a una reducción significativa de los niveles y de la duración de la excreción viral, y a la prevención de la disminución en la ganancia de peso.

Algunos estudios indican que niveles óptimos de protección se consiguen cuando se emplean vacunas vivas. Otros trabajos señalan que en los días inmediatamente posteriores a la infección, la utilización de vacunas vivas previene de forma más efectiva que las inactivadas, una disminución en la ganancia de peso. Por otro lado, en los estadios tempranos de la infección por ADV, la aparición de respuestas linfoproliferativas se ha relacionado con una reducción de la excreción viral y éste tipo de respuesta es de mayor magnitud después de la inmunización con vacunas vivas.^{3,6}

Tanto las vacunas vivas como las inactivadas son eficaces en la protección frente a los síntomas clínicos de la enfermedad y la infección letal, aunque existen diferencias en cuanto a la obtención de niveles óptimos de protección, dependiendo de múltiples parámetros como el genotipo vacunal, la ruta de administración, el uso de adyuvantes, el programa de vacunación empleado, el nivel de exposición al virus virulento o el nivel de anticuerpos maternos que presentan los lechones en el momento de la vacunación. Estos parámetros influyen de forma significativa en la reducción de la excreción vírica, en el establecimiento de latencias y en la reactivación del virus campo.^{3,6}

Para que la vacuna tenga una mayor efectividad se tienen que seguir las siguientes condiciones

- Tener un genotipo vacunal adecuado a la situación epidemiológica.
- Hacer una correcta aplicación de la vacuna.
- Que la ruta de administración y el uso de adyuvantes sean los adecuados.
- Tener un programa de vacunación adecuado.
- Tomar en cuenta el nivel de exposición de las poblaciones vacunadas al virus Virulento (presión infectiva).

- Que se haga un buen manejo de la vacuna.
- La vacuna tiene que ser estable.

Estos parámetros influyen de forma significativa en el éxito del programa de erradicación, al estar íntimamente implicados en la reducción de la excreción vírica, en el establecimiento de latencias y en la reactivación del virus campo.¹

III.10 ERRADICACIÓN

Todos los países deben de establecer su propio programa de erradicación ya que las condiciones zoonositarias son diferentes uno del otro, pero en general todos deben seguir las siguientes recomendaciones para que el programa de erradicación tenga éxito.^{1,3}

- Establecer una legislación específica que soporte del programa.
- Tener una estrecha cooperación entre administraciones, veterinarios y productores.
- Hacer un programa efectivo de muestreo serológico que permita conocer la prevalencia de la enfermedad, y su evolución.
- Establecer un programa de control de la enfermedad mediante vacunación, sacrificio o mixto.
- Controlar las cerdas de reposición y de la auto-reposición.
- Revisar y optimizar las medidas de manejo, y del flujo de animales para reducir la transmisión del virus en las explotaciones.
- Establecer las medidas de bioseguridad adecuadas: instalaciones y personal.
- Controlar el movimiento de los animales.

Métodos de erradicación que se han mostrado eficaces utilizando o no la vacunación^{1, 16, 1}

- La despoblación/repoblación.
- La eliminación de seropositivos sin utilizar la vacunación.
- El destete segregado.
- La vacunación intensiva junto con la introducción de cerdas de reposición vacunadas que sean seronegativas (gE-).
- Vacunación de todos los animales hasta que se halla sacrificado el ultimo portador vírico, o eliminación de los portadores del virus de campo mediante diferenciación serológica periódica empleando las vacunas marcadas.
- Constituir una segunda unidad en las explotaciones, que será ocupada exclusivamente por animales serológicamente negativos y realizar un cambio progresivo de toda la explotación

IV. MATERIALES Y MÉTODO

Se realizó un estudio para determinar la seroprevalencia de la enfermedad de Aujeszky en cerdos, en tres granjas porcinas del municipio de León, que se sitúa a unos 20 Km. de la costa pacífica en una posición geográfica de 12° 26' al norte (latitud) y 86° 53' al oeste (longitud)

La población porcina en el municipio de León, según CENAGRO se estableció en 8260 cabezas, de los cuales 5790 son criados en traspatio y 2470 son criados en granjas.⁴ (el 84 % son hembras y machos menores de seis meses de edad y el 16 % son hembras y machos mayores de seis meses de edad). La crianza de cerdos en granjas representan el 29.9 % de la producción porcina local,⁴

La población objeto de estudio es de 1037 cerdos, esto representan el 41.98% de la producción porcina en crianza de granjas.⁴ Para la realización del muestreo se estratificaron las poblaciones porcinas de las granjas en mayores y menores de 6 meses de edad, tomando como referencia lo descrito por el CENAGRO, la elección de los cerdos se hizo al azar, donde participaron todos los cerdos presentes en las granjas. Se realizó el estudio en granjas debido a la importancia de desimanación de la enfermedad en éstas.

IV.1 TIPO DE ESTUDIO.

El estudio es descriptivo de tipo transversal.

IV.2 Tamaño de muestra.

Para la determinación del tamaño de la muestra, se realizó cálculo utilizando el programa Win Episcope 2.0, determinación de porcentajes. A partir de una población de 1037 cerdos (hembras y machos de todas las edades)⁴, con una prevalencia esperada del 8 %, un error aceptado del 5 % y un nivel de confianza del 95 %. El tamaño de la muestra según el programa es de 92 cerdos, de los cuales 79 serán hembras y machos menores de seis meses y 14 serán hembras y machos mayores de seis meses.

IV.3 Descripción del método de diagnóstico (Herdchek Anti-ADV gpl).

Herdchek Anti-ADV gpl es un inmunoanálisis enzimático de IDEXX para la detección de anticuerpos del suero porcino frente al antígeno gpl del virus de la pseudorrabia o la enfermedad de Aujeszky (ADV). La presencia de anticuerpos al gpl indica el contacto con cepas de campo de ADV y o vacunas que contienen el antígeno gpl. Cuando se usa con vacunas de ADV gpl negativas fabricadas para Boehringer Ingelheim Inc., Pfizer Animal Health, Syntrovet Inc., y Fort Dodge Animal Health, y cuando se lleva a cabo en laboratorios autorizados de los Estados Unidos, es un análisis oficial diferencial de la enfermedad de Aujeszky aprobado en los programas federales de erradicación de esta enfermedad.

Debido a que la técnica Herdchek Anti-ADV gpl, es específica para anticuerpo frente a gpl, ignora los títulos de anticuerpos en animales vacunados con vacunas gpl-negativas pero detecta los anti-gpl de animales infectados con cepas de campo o vacunados con cepas que contienen el antígeno gpl. La técnica utiliza anticuerpos monoclonales que son específicos para gpl. Antes de vacunar los cerdos con vacunas gpl-negativas, se

puede analizar utilizando el ensayo Herdchek Anti-ADV Screening Y/o verificación (anticuerpos totales) para determinar el estado inmunitario. Posteriormente la vacunación los cerdos se deberían analizar rutinariamente al menos dos veces al año utilizando el ensayo Herdchek Anti-ADV gpl para comprobar si ha habido exposición a cepas de campo.

Descripción y Principios.

El ensayo Herdchek Anti-ADV gpl se lleva a cabo en un microposillo adsorbido con antígeno ADV usando dilución de suero en base 2 (1:2). Durante la primera incubación los anticuerpos anti-ADV presentes en el suero incluyendo aquellos producidos contra gpl reacciona con el antígeno en el plástico. Después de un estadio de lavado se añade el conjugado de anticuerpos monoclonales anti-gpl al microposillo donde puede unirse a cualquier antígeno vírico gpl durante una segunda incubación. Si no hay anticuerpos anti-gpl el antígeno gpl no ocupado esta disponible para el anticuerpo anti-gpl conjugados. Por el contrario, si hay anticuerpos anti-gpl en el suero, los anticuerpos monoclonales conjugados con la enzima no pueden reaccionar con el antígeno.

Después de este periodo de incubación el conjugado que no ha reaccionado se elimina por lavado y se añade una solución sustrato/cromógena en presencia de la enzima. El sustrato se convierte en un producto que reacciona con el cromógeno generando un color azul. La absorbancia se mide utilizando un espectofotómetro a 620-650 nm/A (650). Los resultados se calculan sustrayendo la A (650) de la muestra de la del control negativo y dividiendo dicha diferencia por la A (650) del control negativo. Este dividendo se multiplica por 100 para expresar el porcentaje de inhibición. La cantidad de anticuerpos frente al gpl es inversamente proporcional a la A (650) y directamente proporcional a la inhibición. La presencia de anticuerpos anti-ADV, incluyendo antígeno gpl, indican una exposición previa a una cepa de campo de ADV, o la aplicación de

vacunas víricas modificadas vivas o inactivas que contienen gpl. La presencia de anticuerpos anti-ADV detectado por el ensayo Herdchek Anti-ADV verificación y/o screening junto a la ausencia de anticuerpos al antígeno gpl como se detecta por el ensayo anti-gpl, indica una respuesta únicamente a la vacuna gpl-negativa.

Precauciones y advertencias para los usuarios.

- Manejar todos los materiales biológicos ADV como si fueran capaces de transmitir ADV, aunque el virus ha sido inactivado químicamente.
- No pipetear con la boca.
- No se debe comer, beber o fumar cuando se estén manejando muestras o Reactivos del Kit.
- La TMB sustratos y las soluciones de interrupción pueden irritar la piel.
- Algunos componentes del Kit. contienen Azida de sodio como conservante. Su desecho requiere su lavado con agua corriente en gran cantidad para prevenir la formación de azida de cobre o de plomo que puede ser explosivo por percusión. Deben tomarse precauciones para prevenir la contaminación del conjugado anti-PRV gpl: HRPO con este conservante.
- No exponer las soluciones de TMB a la luz fuerte o a cualquier agente oxidante.
- Manejar todas las soluciones de TMB sustrato en vidrio limpio o material plástico.
- Almacenar todos los reactivos de 2⁰ – 7⁰ C. llevarlos a temperatura ambiente (18⁰ - 23⁰ C) antes de su uso y una vez usados volverlos a almacenar de 2⁰ – 7⁰ C.
- Todos los residuos deben descontaminarse adecuadamente antes de su desecho
- Se debe tener cuidado para impedir la contaminación de los componentes del Kit.

- No usar componentes caducados y no entremezclar compuestos de diferentes lotes
- Los resultados óptimos se obtendrán siguiendo estrictamente este protocolo.
- El pipeteo cuidadoso, la coordinación y el lavado durante todo este procedimiento son necesarios para mantener la precisión y exactitud.

Tabla N° 1

REACTIVOS	VOLUMEN	
Placas Adsorbidas con ADV.	6	30
Conjugado anti-ADV gpl: peroxidasa de rábano macho (HRPO) en buffer como estabilizantes proteicos con gentamicina como conservantes.	60 ml	350 ml
Control negativo-suero porcino que reacciona frente al antígeno ADV gpl, en buffer con estabilizantes proteicos con azida sódica como conservante.	5ml	5ml
Control positivo ADV gpl –anti-gpl en buffer con estabilizante proteico con azida sódica como conservante.	5ml	5ml
Diluyente para las muestras buffer con estabilizantes proteicos con azida sódica como conservante.	120ml	300ml
Solución de lavado Buffer fosfato concentrado (10x), con gentamicina como conservante.	235ml	1440ml
TMB sustrato.	60ml	315ml
Solución de interrupción.	60ml	315ml

Preparación de las muestras.

Diluir las muestras a analizar en base 2(1:2) en diluyente para las muestras. Estar seguro de cambiar las puntas de pipeta para cada muestra y registrar la posición de cada muestra en la placa usando una Herdchek Worksheet (hoja de trabajo de chequeo de la piara). Hay que homogenizar las muestras antes de dispensarse en la placa absorbida con ADV.

Preparación de la solución de lavado.

El concentrado del lavado debe llevarse a temperatura ambiente (18° - 23° C.) y agitarse para asegurar la disolución de cualquier sal precipitada. El concentrado del lavado debe diluirse 1 a 10 con agua destilada o desionizada antes de usarlo (por ejemplo 30ml de concentrado mas 270ml de agua por cada placa a analizar).

Procedimiento del test.

A todos los reactivos se les debe permitir ponerse a temperatura ambiente (18° - 23° C) antes de su uso los reactivos deben homogenizarse suavemente.

Coger la placa o las placas absorbidas con antígeno y registrar la posición de las muestras en el Herdchek Worksheet (hoja de trabajo de chequeo de la piara).

- Dispensar 100ul de control negativo (DILUCIÓN 1:2) en los pocillos A1 y A2.
- Dispensar 100ul de control positivo (DILUCIÓN 1:2) en los pocillos A3 y A4.
- Dispensar 100ul de muestra diluida en los pocillos apropiados.
- Incubar una hora a temperatura ambiente (18° - 23° C.) o de noche 2° - 7° C.
- Lavar cada posillo con aproximadamente 300ul de solución de lavado de 3 a 5 veces. aspirar el contenido líquido de todos los pocillos después de cada lavado. Evitar que la placa se seque entre los lavados y antes de añadir el conjugado. Después de la última aspiración de líquido, sacudir el líquido residual de cada placa en material absorbente de forma suave pero firme.
- Dispensar 100ul de conjugado anti-ADV gpl: HRPO en cada posillo.
- Encubar 20 minutos a temperatura ambiente durante 15 minutos (18° - 23° C.).
- Dispensar 50ul de solución de interrupción en cada pocillo para parar la reacción.
- Hacer el blanco en el espectrofotómetro con aire.
- Medir y registrar la A (650) de las muestras en y controles.
- Calcular resultados.

Resultados e Interpretación

Para que el ensayo sea válido, la media A (650) del control negativo menos la media A (650) del control positivo debe ser igual a 0.3. En ensayos no válidos se debe sospechar de la técnica y el análisis se deberá repetir siguiendo una revisión minuciosa de las instrucciones del producto. La presencia o ausencia de anticuerpos frente al antígeno gpl se determina calculando el valor de inhibición de cada muestra.

Seroprevalencia de la enfermedad de aujeszky en tres granjas del municipio de León

- Si la inhibición es mayor o igual al 40% la muestra se clasifica como positiva de anticuerpos frente al antígeno gpl de ADV.
- Si la inhibición es mayor o igual al 30% pero menor que el 40 % la muestra se clasifica como sospechosa de anticuerpos frente al antígeno gpl de ADV y es una candidata para repetirse en un test posterior.
- Si la inhibición es menor que el 30% la muestra se clasifica como negativa de anticuerpo frente al antígeno gpl de ADV.

Cálculos.

Cálculo de la media de control negativo (NCx):

$$\frac{A1 A (650) + A2 A(650)}{2}$$

Cálculo de la de control positivo (PCx):

$$\frac{A3 A (650) + A4 A (650)}{2}$$

Cálculo de inhibición %:

$$\frac{NCx - muestra A (650) \times 100}{NCx}$$

IV.4 TOMA DE MUESTRA DE SANGRE

La sangre se extrajo de la vena cava anterior mediante venopunción. La posición del cerdo parado fue importante, la cabeza estaba hacia arriba, el cuerpo derecho y las patas delanteras bien hacia atrás. En el cerdo parado se buscó la fosa yugular hasta su límite caudal exactamente, por delante de la entrada torácica. La aguja se insertó en el extremo caudal de la fosa yugular y se inclinó en dirección dorsal y ligeramente caudal e interna a lo largo de una línea imaginaria que atraviesa el borde superior del hombro opuesto. Se desinfectó la zona y se realizó la venopunción con aguja calibre 18 desechable. Una vez tomada la muestra, se vertió en tubos de ensayo de 10 ml sin anticoagulante.⁵

Se realizó centrifugado de la sangre para extracción del suero a 3000 rpm en un tiempo de 5 minutos y se depositó en micro viales de 1.5 ml almacenándose a 4⁰ C para su posterior análisis.

IV.5 Materiales

1. Jeringas desechables de 10 ml.
2. Agujas desechables calibre 18.
3. Tubos de ensayo de 10 ml sin anticoagulante
4. Alcohol al 70%
5. Algodón.
6. Gradillas.
7. Guantes de látex.
8. Fichas de registro.
9. Termo contenedor de muestras.
10. Pipetas de precisión adecuadas para dispensar 50 y 100 uL.
11. Puntas de Pipeta desechables.
12. Microviales.
13. Papel Toalla.
14. Estufa bacteriológica.
15. kit para la detección de los anticuerpos anti-gpl del virus de la enfermedad de Aujeszky (ADV).
16. Centrifuga.
17. Sueros problema.
18. Probetas graduadas de 500 ml para la solución de lavados.

19. Lector de placas de 96 pocillos a 650 nanómetros.
20. Tubo de vidrio o plástico para la dilución de las muestras.
21. Agua destilada.
22. Aparato para la dispensación y aspiración de la solución del lavado (lavador)
23. Fuente de vacío y un recipiente para recoger el aspirado.
24. Erlenmeyer.
25. Hoja de Trabajo.
26. Platos petri.
27. Placas de Elisa estériles de 96 pocillos.

V. RESULTADOS

1. La seroprevalencia de la enfermedad de Aujeszky en la zona objeto de estudio es cero. (Gráfico 19)
2. Los niveles de absorbancia obtenidos en la lectura a 650 nm se manejan en rangos de absoluta negatividad. (Tabla 2)
3. A partir de la información obtenida rechazamos la hipótesis nula.
4. De las muestras estudiadas 54% eran hembras y 46% eran machos. (Gráfico 2)
5. El 71% corresponde a cerdos menores de seis meses y el 28% corresponde a cerdos mayores de seis meses. (Gráfico 3)
6. En cuanto al alimento suministrado 50% se alimentaban con concentrados y 33% otro tipo de alimentos. (Gráfico 5)
7. Los tipos de comederos encontrados el 60% eran de concreto, 20% eran llantas y 20% otro tipos de comederos. (Gráfico 6)
8. Las infraestructuras de las granjas el 75% eran concretos y 25% de tubos. (Gráfico 7)
9. En lo referente al suministro de agua el 100% de las granjas la obtiene de pozos. (Gráfico 8)

VI. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

1. El resultado obtenido por el presente estudio no es coincidente por el presentado por Morilla Gonzales, A. (1996). En el cual se presenta la seroprevalencia del 80% de la EA en México.
2. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en base a la Sensibilidad y Especificidad de la prueba diagnóstica utilizada, el nivel de confianza y el error aceptado es posible que en el universo de cerdos que componen la cabaña se puedan encontrar como máximo dos cerdos positivos.
3. De acuerdo a los planteamientos del estudio la máxima prevalencia posible es del 0.09%.

VII. CONCLUSIONES

1. No se identifico seroprevalencia de la EA en las granjas en estudio.
2. La diferencia entre la prevalencia esperada con la encontrada es del 8% ya que en nuestro estudio la prevalencia se determinó en 0%.
3. Las condiciones higiénicas sanitarias de las granjas estudiadas son deficientes

VIII. RECOMENDACIONES

1. Realizar seguimiento serológico al menos dos veces por año en las granjas objeto de estudio con el fin de mantener el estatus epidemiológico actual.
2. Manejar registros reproductivos actualizados de las granjas, para llevar un control establecido de las muertes neonatales, momificaciones, y algunas alteraciones de carácter reproductivo. Con el fin de poder determinar por esta vía la presencia de enfermedades asociadas al síndrome SMEDI.
3. Realizar la reposición de sementales a partir de empresas certificadas sanitariamente.
4. Realizar charlas de manejo porcino a los productores.
5. Establecer, mejorar y consolidar los sistemas de bioseguridad en las granjas.

IX. BIBLIOGRAFÍA.

1. M. Arias, C. Sánchez y J. M. Sánchez-Vizcaíno. Encefalitis víricas porcinas CISA-INIA 28130 Valdeolmos, Madrid Publicado en PORCI Sept. 2000
<http://www.exopol.com/general/circulares/135.html> 11/02/08.
2. Quintiliano Pérez Bonilla, D^a Isabel García Sanz, Dirección General de Ganadería del MAPA situación de la enfermedad de Aujeszky (España-Europa) influencias en el comercio de porcino <http://www.avancesentecnologiaporcia.com> 09-02-08.
3. Sánchez-Vizcaíno J. M Dr. Curso Digital de Enfermedades Infecciosas Porcinas (Enfermedad de Aujeszky) Ed. 2003 CD. ROM.
4. III Censo Nacional Agropecuario <http://www.inec.gob.ni> Cuadro N° 32.
5. Straw Barbara, D'Allaie Sylvie, Menyeling William, Taylor David. Enfermedades Infecciosas del Cerdo. VIII Edición, Editorial INTERMEDICA. Buenos Aires, Argentina 2000 Pág. 227.
6. Instituto de virología –C.I.C.V.-INTA. Curso de técnicas de diagnóstico en virología animal. Pruebas Inmunoenzimáticas (ELISA). <http://www.veterinaria.org> 25-02-08
7. Oren S. et al, Evaluation of serological pseudorabies tests for the detection of antibodies during early infection. J Vet Diagn Invest. 1993; 5:529–533

8. Consultorio- Guillermo Gallandat. <http://www.territorioidigital.com> 07/04/08

9. Enfermedades Infecciosas en Medicina Veterinaria <http://www.veterinaria.org>
07/04/08

10. Iglesias, S.G, infección con el virus de la enfermedad de Aujeszky en cerdo
<http://www.avparagon.com> 02/05/08

11. Iglesias, S G, infecciones congénitas y neonatales por herpes virus infectología.
Departamento de producción Porcina, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,
Universidad Nacional Autónoma De México.
<http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol4/CVv4c8.pdf> 02/05/08

12. KLUGE, J.P., BERAN, G. W., HILL, H. T., PLATT, K. B. Pseudorabies (Aujeszky's
disease). Diseases of swine. 8th edition. 1999. Iowa State University Press. Pag.233-
245.

13. Echeverría M.G, Noretto E.O. Actualización en enfermedad de Aujeszky. Cátedra
de Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Nacional de La Plata,
Argentina Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas
(CONICET)Argentina.
http://www.fcv.unlp.edu.ar/analecta/vol20n2/046_VE20n2_echeverria_enfermedad_a_ujeszky.pdf 07/ 08/08

14. Beer J. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos tomo 1. Editorial
acribia. Pág. 299

15. Hans Plonait y Klaus Bickhardt. Manual de enfermedades infecciosas del cerdo. Editorial acribia S.A. Pág. 215.
16. Frank Fenner/ Peter A Bachmann, E. Paul J. Gibbs, Frederick A Murphy, Michael J. Estuddert, David O. Whit. Virologia veterinaria. Editorial acribia.
17. Méd. Vet. Norma Pereyra. Instituto de Porcinotecnia (MAGIC. Sta.Fe); Cát. De Microbiología, Fac. Cs. Veterinarias (UNR) <http://www.vetefarm.com> (7/10/2001).
18. Morilla Gonzales Antonio. Control y Erradicación De La Enfermedad De Aujeszky. Laboratorio De Inmunología. CENID-Microbiología, Instituto Nacional De Investigaciones Forestales y Agropecuarias-SAGAR. 1996
<http://www.fmvz.unam.mx> 13/11/08
19. Dra. Arias Neira M. Dr. Sánchez-Vizcaíno J.M. La enfermedad de Aujeszky, diagnostico, control y erradicación. 05/05/08
<http://www.sanidadanimal.info/descargas/Aujeszky.pdf>
20. Marco, E. (2002). La Enfermedad De Aujeszky
<http://rasve.mapa.es/Publica/InformacionGeneral/Enfermedades/ficheros/Aujeszky>.

X. ANEXOS

Tabla N° 2. Rangos de intensidad de absorbancia del Espectrofotómetro							
Rangos	>10	(6-10)	(1-5)	(0 a -0,99)	(-1 a -5)	(-6 a -10)	< -10
Total	4	7	21	13	34	12	5

Tabla N° 3. Rangos de Absorbancia vs. Edades		
Niveles de Absorbancia	Edades	
	> 6 meses	< 6 meses
>10	0	2
(6-10)	1	6
(1-5)	5	17
(0 a -0,99)	5	6
(-1 a -5)	10	23
(-6 a -10)	1	12
< -10	3	1
Total	25	67

Grafico No. 1: Total de Cerdos por Sexo y Granjas Muestreadas.

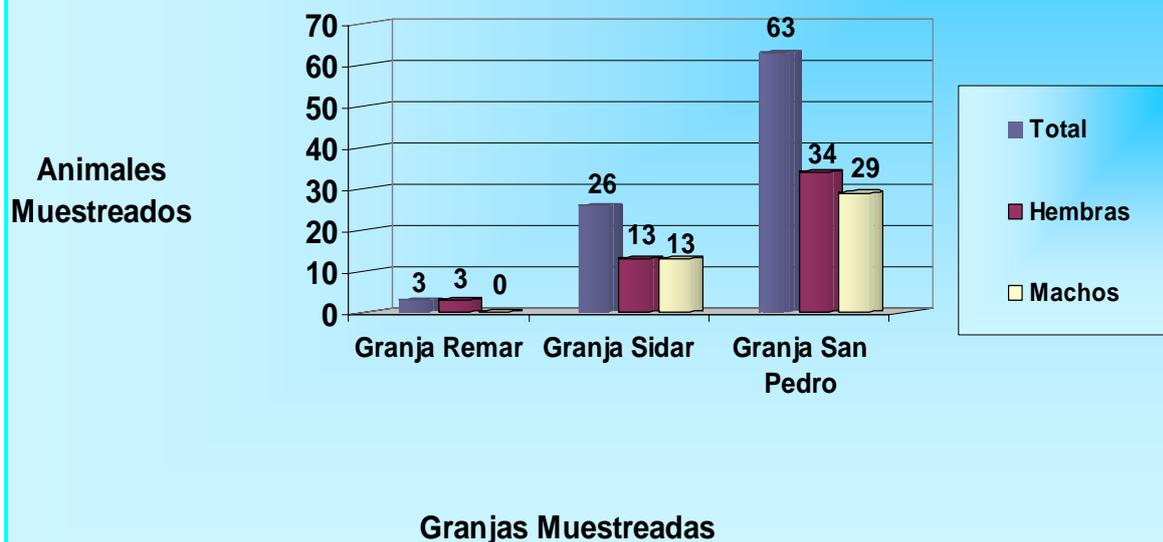


Grafico No. 2: Porcentaje Total de Hembras y Machos Muestreados

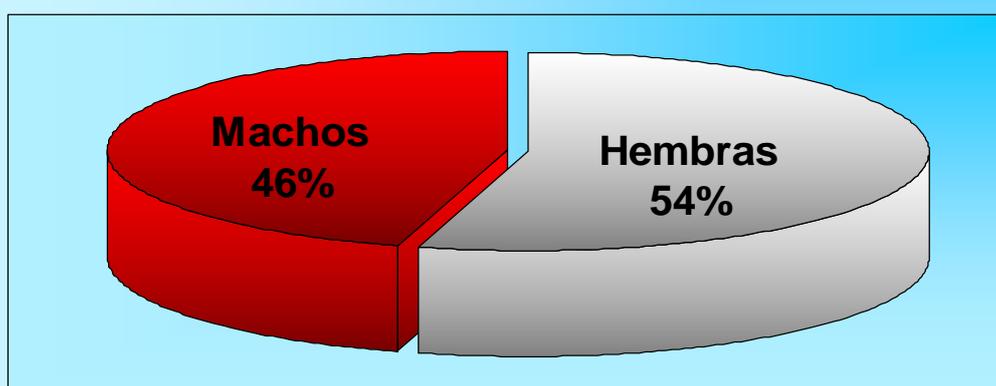


Grafico No. 3: Rango de Edades de los Animales Muestreados

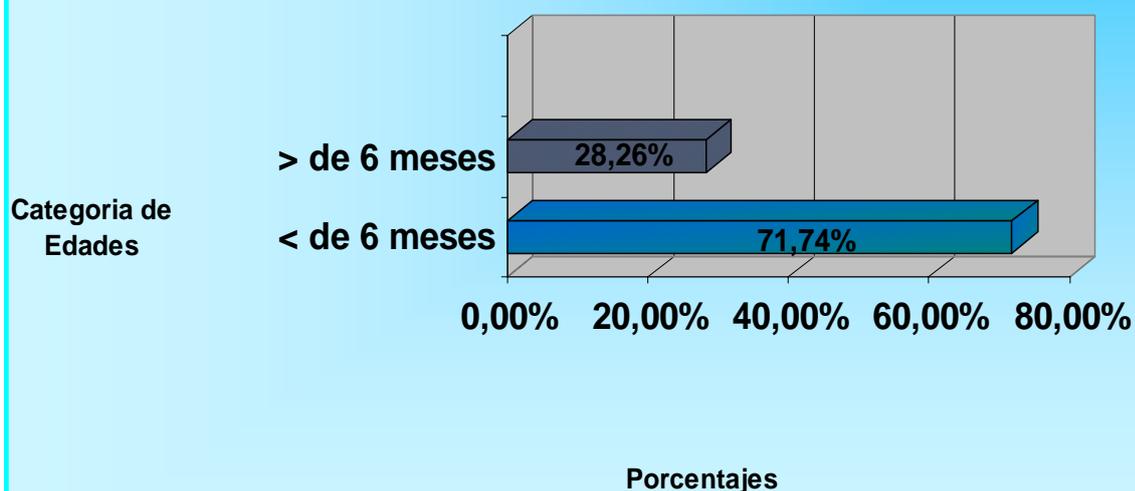


Grafico No. 4: Actividad Productiva a la que estan destinados los animales muestreados en las granjas.

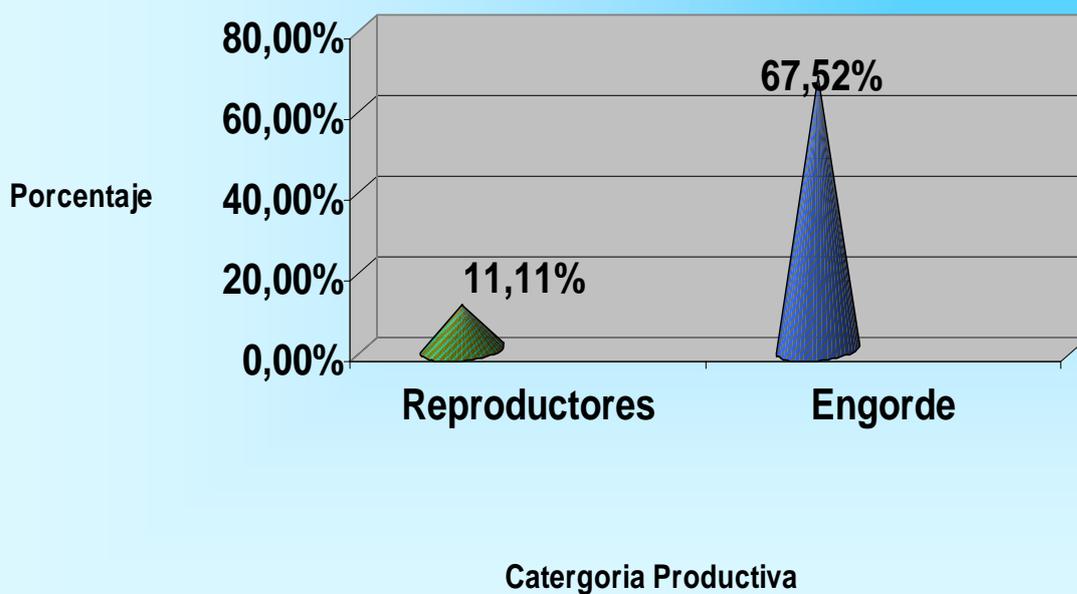


Grafico No. 5: Tipo de Alimentacion que le suministran a los Cerdos Muestreados en las granjas.

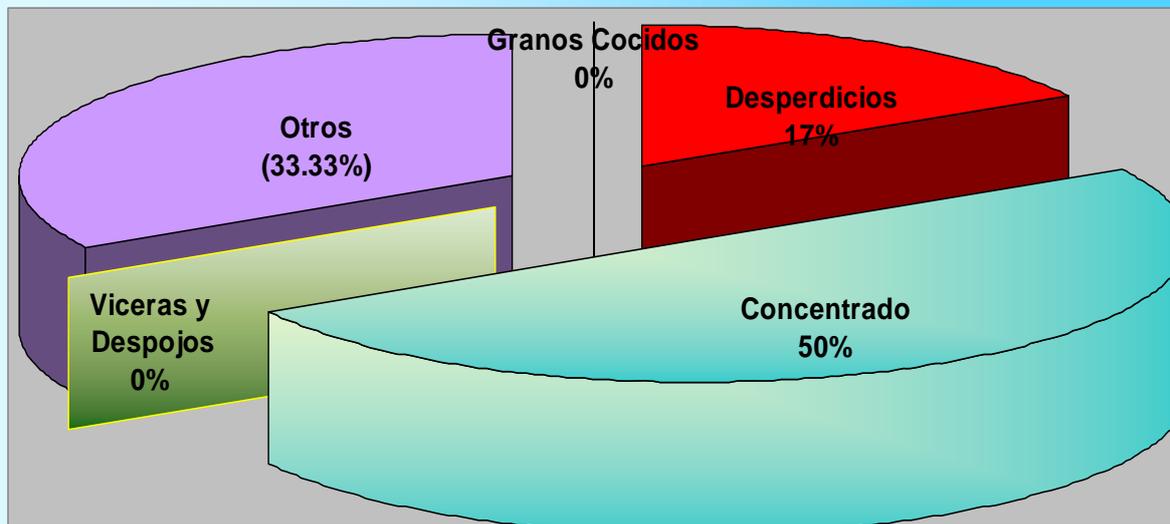


Grafico No.6: Tipos de Comederos en los que suministran el Alimento en las granjas en Estudio



Grafico No. 7: Infraestructura de las granjas en estudio

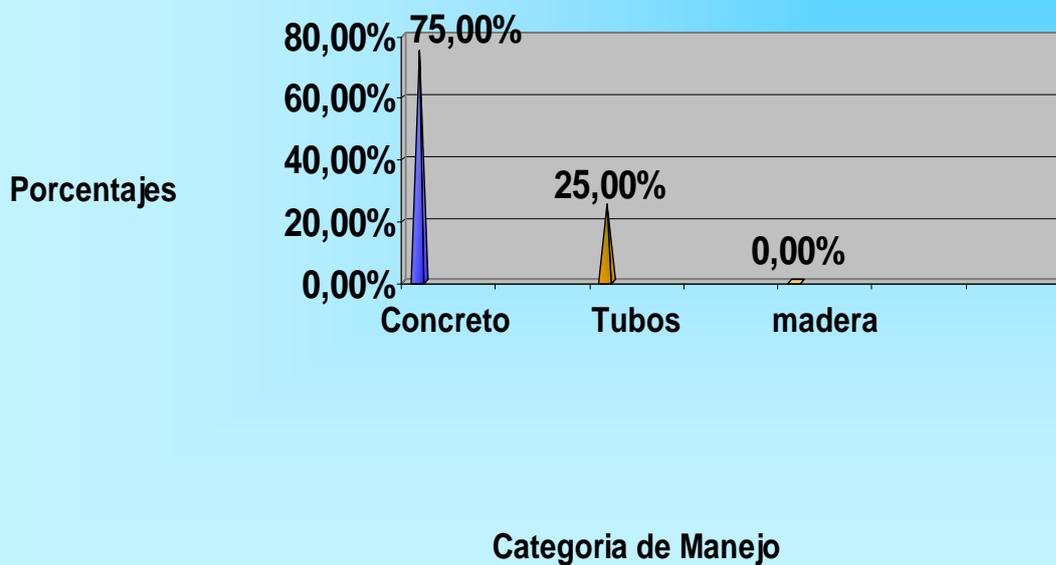


Grafico No. 8: Suministro de agua

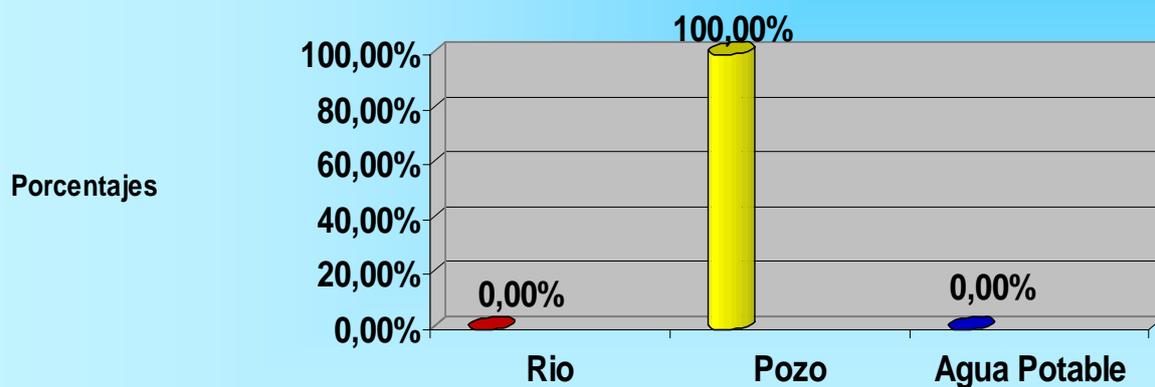


Grafico No. 9: Destino de los Desperdicios que producen los Cerdos en las granjas

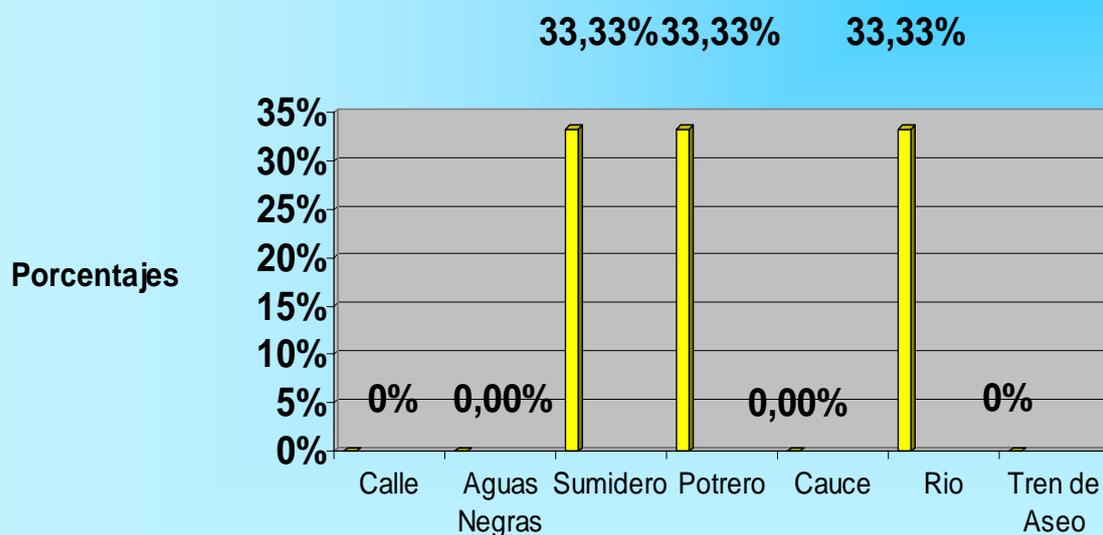


Grafico No. 10: Animales presentes en las granjas

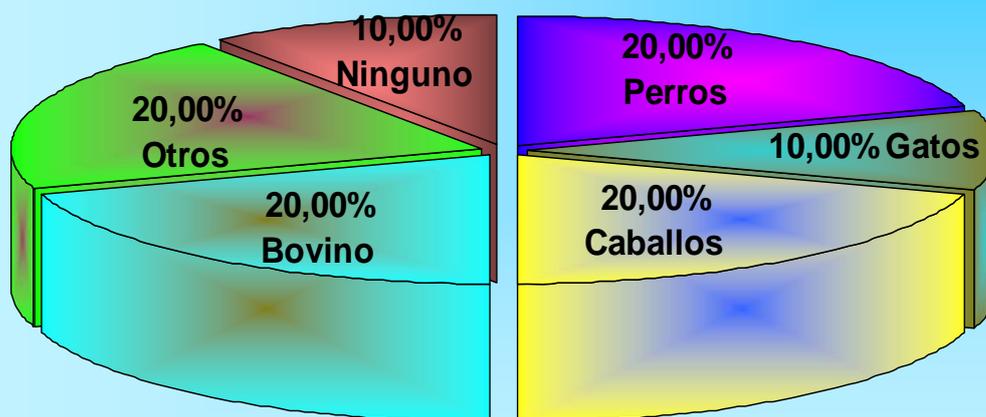


Grafico No. 11: Tipos y porcentaje de desinfectante que utilizan en las Granjas en estudio

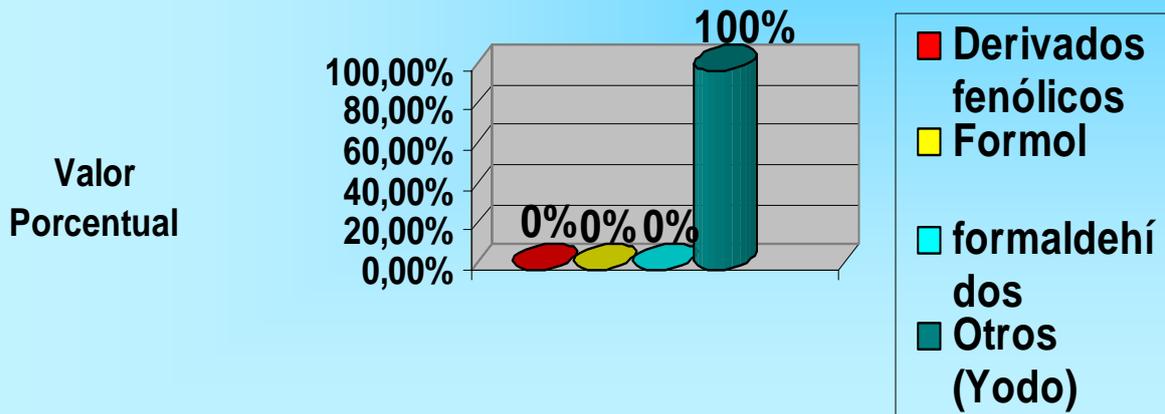


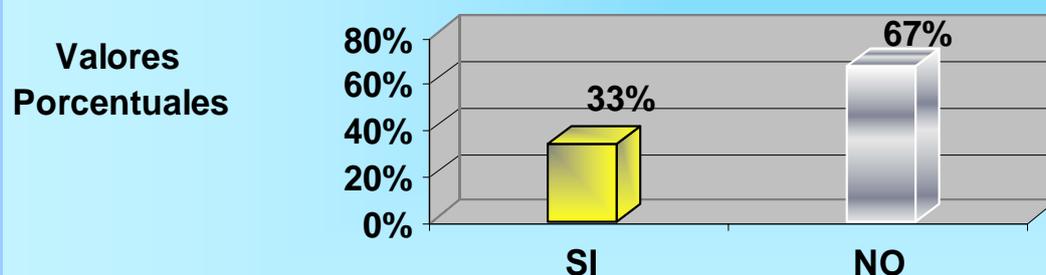
Grafico No. 12: Porcentaje de Granjas que aplican Vitaminas a los Cerdos



Grafico No. 13: Porcentaje de Granjas que Desparasitan a los Cerdos



Grafico No. 14: Porcentaje de cerdos que le aplican algún tipo de Vacunas en las granjas en Estudio



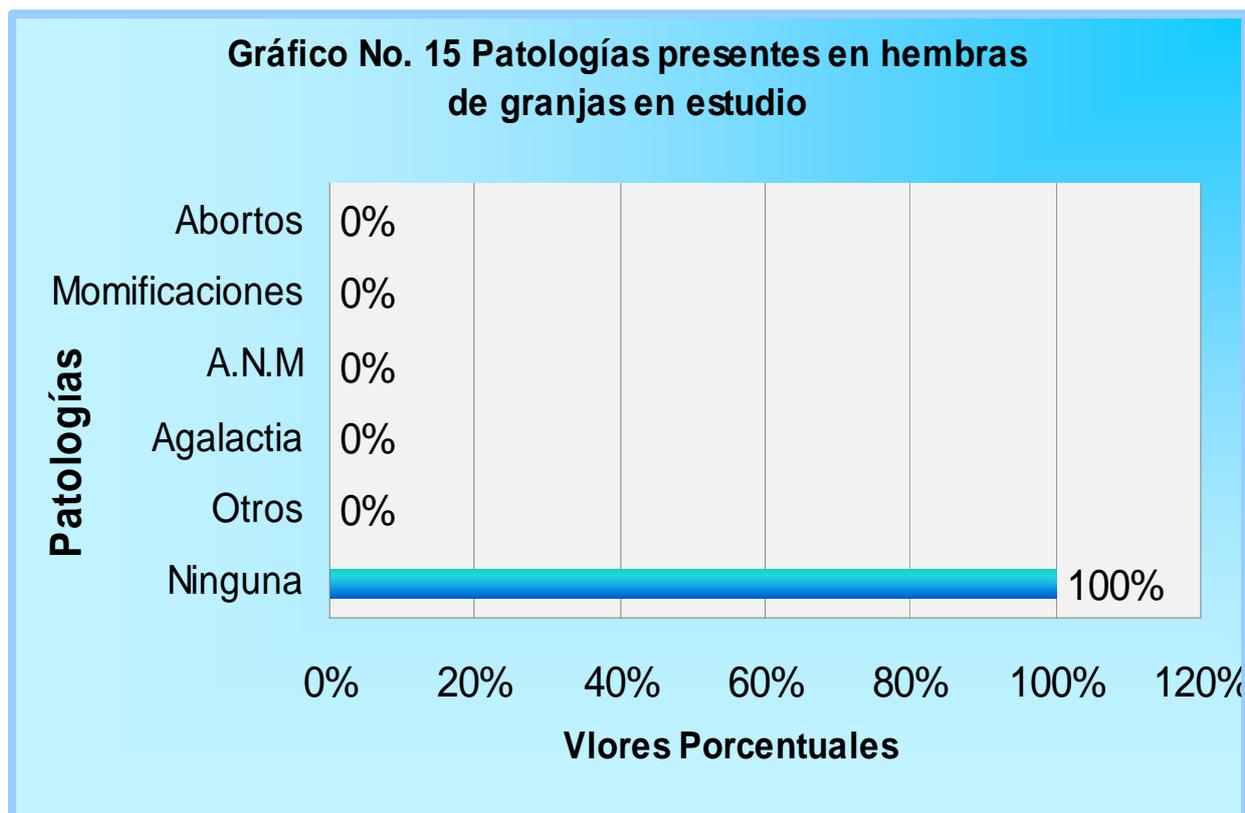


Grafico No. 17: Porcentaje de Alteraciones Respiratoria en los Cerdos Estudiados

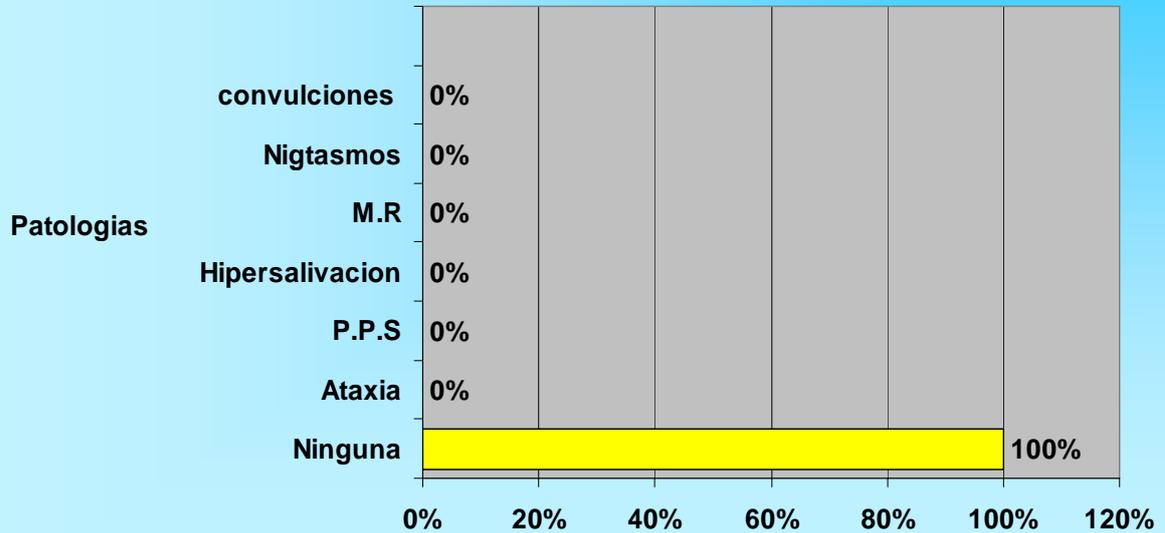
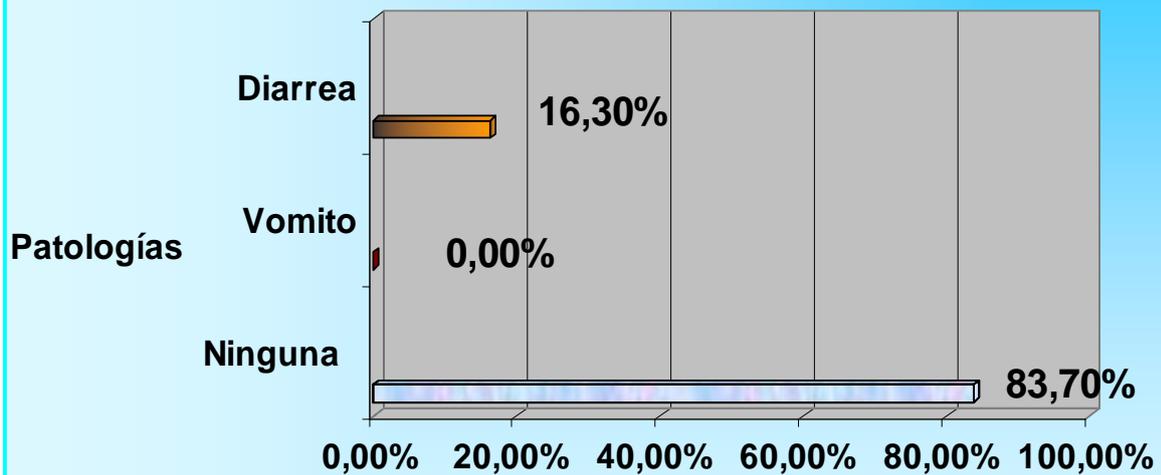
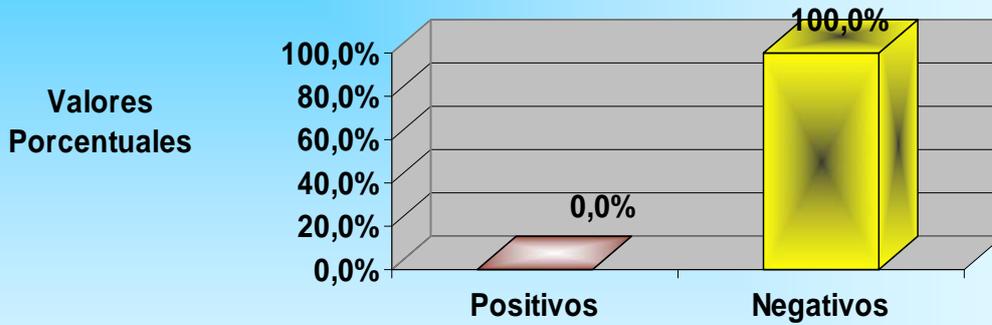


Grafico No. 18: Porcentaje de Alteraciones Digestiva En los cerdos Estudiados



Valores Porcentuales

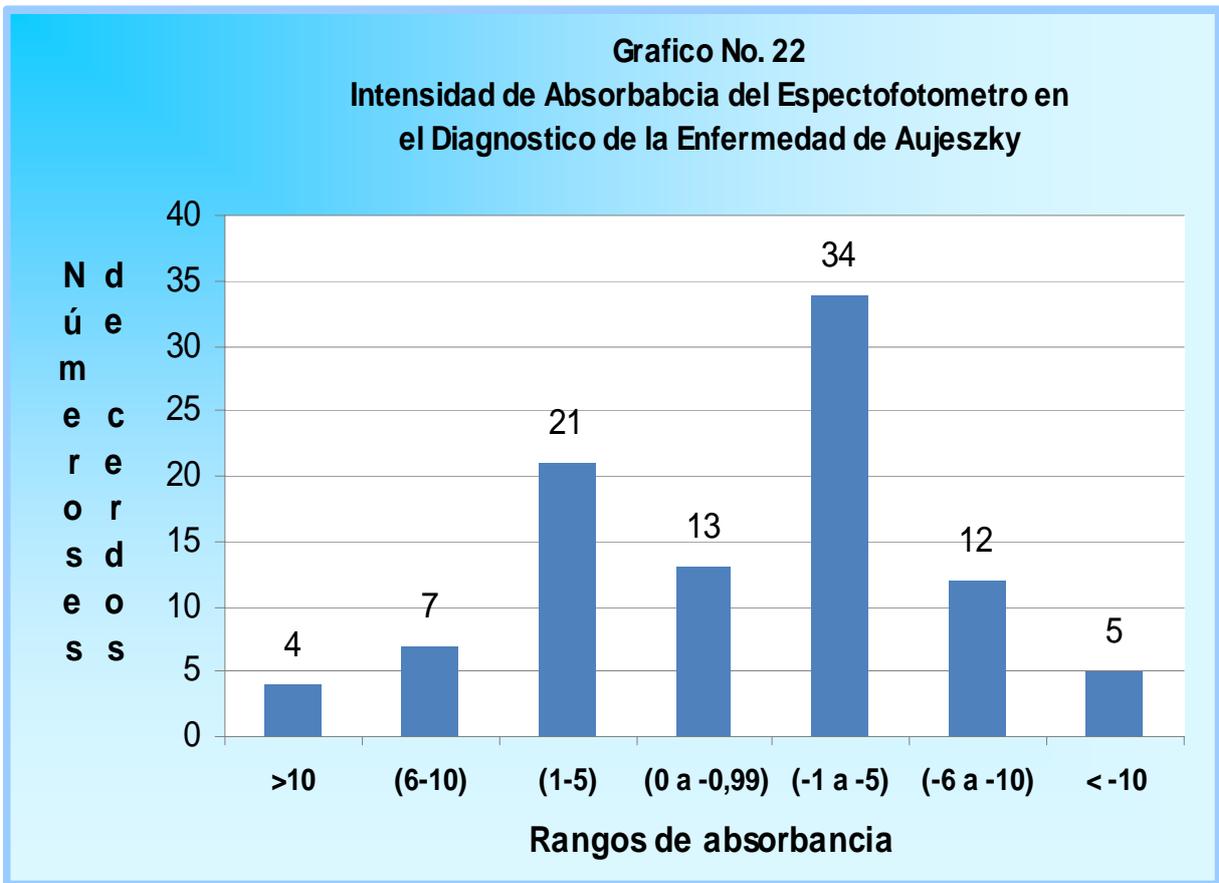
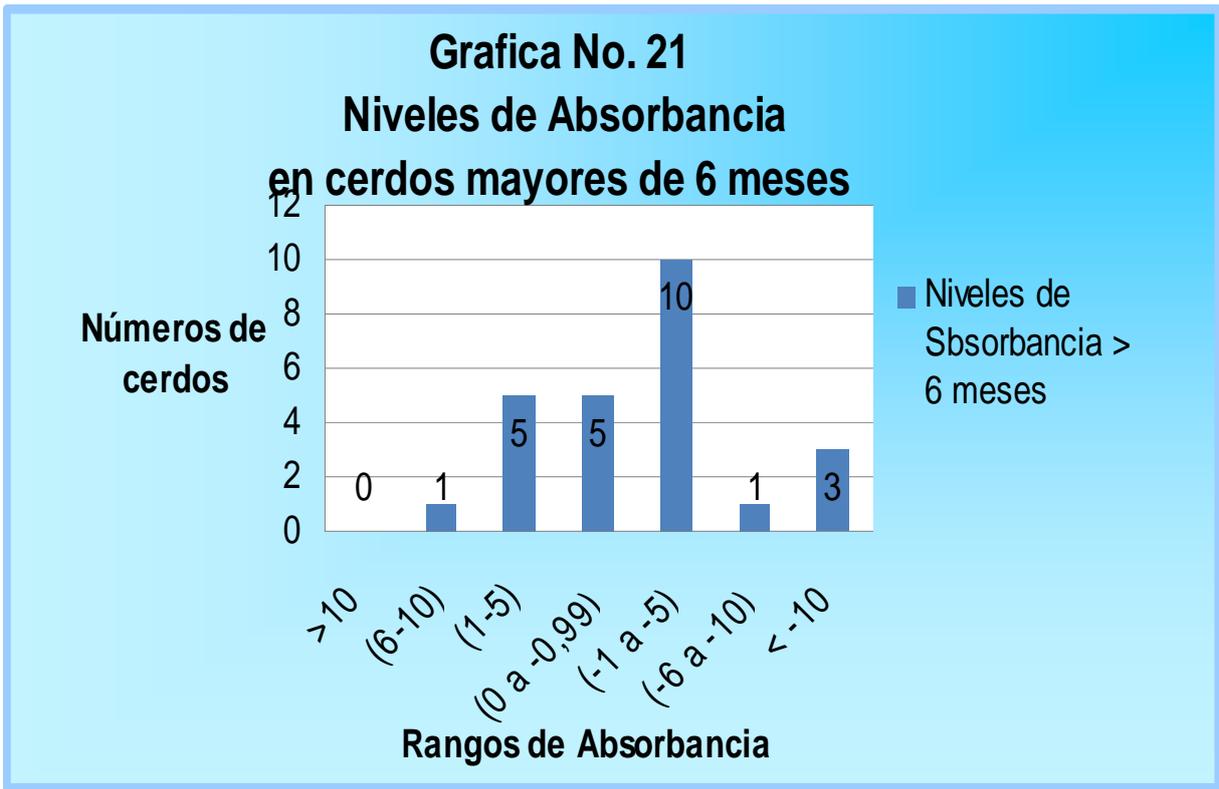
Grafico No. 19: Resultado del Diagnóstico por Elisa Captura de Anticuerpo



**Grafico No. 20
Niveles de Absorbancia**

en cerdos menores de 6 meses







**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA
UNAN-LEON
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA
INVESTIGACION DE PREVALENCIA DE AUJEZKY EN CERDOS DE GRANJA
EN EL MUNICIPIO DE LEON, 2008.**



CODIGO DE GRANJA Nº: _____.

Sexo	ID	CODIGO

DATOS GENERALES:

Fecha: _____ Hora: _____

RESEÑA:

Raza: _____ Nombre o ID: _____ Sexo: _____

Edad: _____ Peso aprox.: _____ Actividad Productiva: _____

Procedencia: Local: _____ Importado de: _____

***Si es Hembra Reproductora:**

Nº de partos: _____ Nº Promedio de Camada: _____ Ultimo Parto: _____

Afectaciones Reproductivas y de Camada:

Retorno a Celos: _____

Momificaciones: _____ Abortos: _____ Agalactia: _____ Animales Nacidos Muertos: _____

Muerte Camada en 1- 7 días: _____ Muerte Camada en 1-9 semanas: _____

Alteraciones Nerviosas de la camada: _____ Bajo peso de camada: _____ Anorexia de camada: _____

Apatía de camada: _____ Vómitos (C): _____ Diarreas (C): _____ Fiebre: _____

ASPECTOS SANITARIOS:

SINTOMAS		Marque con X
Alteraciones Nerviosas	P.M.P.	
	M.R. /Ataxia	
	Postura perro sentado	
	Hipersalivación	
	Espasmos Mm.	
	Nistagmo/Convulsiones	
Alt. Reproductivas. (si es Macho)	Orquitis	
	Baja Tasa M/P	
Alteraciones Respiratorias	Tos	
	Disnea	
	Flujo Nasal	
	Constipación	
	Estornudos	
Alteraciones Digestivas	Vomito/Diarrea	
	Anorexia/Fiebre	

OBSERVACIONES: _____



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA
UNAN-LEON
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA
INVESTIGACION DE PREVALENCIA DE AUJEZKY EN CERDOS DE GRANJA
EN EL MUNICIPIO DE LEON, 2008.



FICHA DE GRANJA N°: _____ CODIGO DE GRANJA: _____

DATOS GENERALES:

Nombre de la Granja: _____

Propietario: _____ Fecha: _____

Dirección: _____ Tel: _____

RESEÑA:

Total de Piara: _____ Total de Hembras: _____ Total de Machos: _____

Total > 6 meses: _____ Total < de 6 meses: _____ M>6: _____ M<6: _____ H>6: _____ H<6: _____

Machos Reproductores: _____ Hembras Reproductoras: _____

Total Animales Engorde: _____ Total de Lechones (1-3 meses): _____

MANEJO:

-Tipo de Infraestructura: Concreto: _____ Tubo de hierro: _____ Madera: _____

-Alimentación: Granos cocidos _____ Desperdicios: _____ Concentrado: _____ Vísceras y Despojos _____

-Tipo de Comederos: Concreto _____ Llantas _____ Suelo _____ Otros: _____

-Suministro de Agua: Río: _____ Pozo: _____ Agua potable: _____

-Limpieza: Cada Cuanto: _____ Desinfección: Cada Cuanto: _____

Producto: _____ Obs.: _____

-Periodos de Descanso de Cubículos: _____

-Animales presentes: Perros: _____ Gatos: _____ Caballos: _____ Bovinos: _____ Otros: _____

-A donde van a parar los desechos producidos por el cerdo:

Calle _____ Aguas Negras _____ Sumidero _____ Patio _____ Cauce _____ Río _____

-Disposición de Cadáveres: Entierro: _____ Cremado: _____ Vertedero Municipal: _____ Potrero: _____

Otros/Observaciones: _____

- Vitaminación: Si: _____ No: _____ Periodicidad: _____

Ultima Aplicación: _____ Producto: _____

SANIDAD:

- Vacunaciones: Si: _____ No: _____ Periodicidad: _____

Ultima Aplicación: _____ Producto: _____

- Desparasitaciones: Si: _____ No: _____ Periodicidad: _____

Ultima Aplicación: _____ Producto: _____

OBSERVACIONES: _____