

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA**  
**UNAN-LEON**  
**ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN MEDICINA VETERINARIA**  
**DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA UNAN-LEÓN**

Tema: Seroprevalencia del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino en cerdos de patio de la zona urbana y suburbana de la ciudad León Santiago de los caballeros en el período del mes de febrero del 2009.

Presentado por: Br. Augusto José Escoto Aráuz

Tutor: Dr. Migdonio Quintanilla Darce.

León, Julio del 2009

## **DEDICATORIA**

Dedico esta Monografía a **Dios**, sin el nada sería posible y quién me guío seguro en todo el transcurso de mi carrera, y me encamino con sus valores de vida en el camino de joven a hombre.

A mi **madre, Adilsa Aráuz Tijerino**, el ejemplo de fortaleza, virtud y empeño más grande que un hombre pueda tener.

A mi **padre, Herminio Escoto García**, su apoyo incondicional y ejemplo de hombre correcto y trabajador son mi inspiración para convertirme en un verdadero hombre.

A mis **abuelos, Don Herminio Escoto Landero y Agustina García Salgado**, los recuerdos de vivencias en su finca me ayudaron a elegir esta bella carrera.

A mi **tío, Carlos Saenz Bellanger**, Médico veterinario, quien espero desde el cielo me cuides y guíes en el largo camino que he iniciado en esta carrera.

## **AGRADECIMIENTO**

A **Dios**, por permitirme salud, física y mental para culminar con éxito mi licenciatura en Medicina Veterinaria.

A mi **madre** y **padre**, cuyo apoyo incondicional me permitió tener el respaldo para culminar mis estudios en la Licenciatura de Medicina Veterinaria.

A mi **tutor** por permitirme participar de las actividades del Grupo docente Salud y Bienestar Animal de UNAN-León.

A los colegas y futuros colegas, **Agustín Palma, Oscar Real, Ricardo Perez, Yasser Barrios, Pablo Blanco, Celeste Argüello, Roberto Carcamo y Jenifer Rosales** quienes desinteresadamente me ayudaron a la recolección y preparación de las muestras.

A la Lic. **Karla González**, quien me brindo su completo apoyo en la realización del diagnóstico.

## **INDICE**

	Páginas
I INTRODUCCIÓN	1
II ANTECEDENTES	3
III PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
IV JUSTIFICACIÓN	5
V OBJETIVOS	6
General	6
Específicos	6
VI MARCO TEÓRICO	7
SINONIMIA	7
CONCEPTO	7
ETIOLOGÍA	7
EPIDEMIOLOGÍA	10
PATOGENIA	10
CUADRO CLÍNICO Y LESIONAL	11
DIAGNOSTICO	17
TRATAMIENTO	18
PREVENCIÓN, CONTROL Y PROFILAXIS	18
VII HIPOTESIS	26
VIII MATERIAL Y MÉTODOS	26
IX RESULTADOS	36
X DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	37
XI CONCLUSIONES	38
XII RECOMENDACIONES	39
XIII BIBLIOGRAFÍA	40
XIII ANEXOS	43

## **I. INTRODUCCIÓN**

El Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (SRRP), es una enfermedad caracterizada por abortos, enfermedad respiratoria en los lechones y cerdos en crecimiento, disminución en la ganancia de peso y aumento de la mortalidad en las piaras afectadas, siendo causa de pérdidas económicas <sup>(11)</sup>. Fue descrito por primera vez en 1987 en Carolina del Norte, Estados Unidos de Norteamérica (EEUU), donde fue conocida como “Enfermedad misteriosa del cerdo” (EMC) por la naturaleza elusiva de su agente causal, la enfermedad se diseminó rápidamente por EEUU y Canadá <sup>(18)</sup>. Durante el período 1990-1991 signos similares al EMC Norteamericana se reportó en Alemania (1990) donde fue llamada “Síndrome Reproductivo Respiratorio Porcino” (SRRP), luego en enero del 1991 se reportó en España y Holanda, en marzo en Bélgica, mayo en Gran Bretaña y noviembre en Francia <sup>(12)</sup>.

La enfermedad SRRP tiene como agente etiológico un virus (VSRRP) el cual fue aislado por primera vez en Holanda en 1991 de cerdos que sufrían severos desórdenes reproductivos y se denominó virus Lelystad <sup>(17)</sup>. En 1992 se aisló un virus de cerdos con severos desórdenes respiratorios y reproductivos, este virus se denominó <sup>(1)</sup> ATCC VR2332. Ambos virus inoculados a cerdos susceptibles indujeron una enfermedad respiratoria y reproductiva similar, confirmando la participación del virus en SRRP. Desde entonces el agente causal del EMC y SRRP se ha diseminado por países de todo el mundo. Fue en el “Simposio Internacional de Síndrome de Infertilidad y respiratorio porcino”, realizado en Minnesota en 1992, que se adoptó el nombre europeo (SRRP) para la enfermedad y, la Oficina Internacional de Epizootias reconoce el término en español “Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino”.

Las cepas virales europeas están antigénicamente muy relacionadas entre sí, pero más alejadas de las cepas Americanas. Las cepas americanas guardan mayor relación entre sí. Se ha detectado SRRP en Asia, algunos países suramericanos (Chile). Australia, Nueva Zelanda, Suecia y Suiza se encuentran libres de SRRP.

La importancia del estudio de la enfermedad en Nicaragua, radica en la gran pérdida económica que el SRRP provoca a nivel mundial, se debe evitar, prever, o controlar la enfermedad si es que existe en Nicaragua, y su similitud clínica con las sintomatologías diversas que se presentan en el área de León, el SRRP afecta a neonatos los cuales muestran disnea, conjuntivitis, fiebre, aspereza de pelo, anorexia, diarrea, temblores, eritema cutáneo, edema de párpados y mortalidad que puede llegar a ser muy elevada. En cerdos destetados y en crecimiento se ha observado fiebre, neumonía, defectos en el desarrollo y un incremento en la mortalidad debido a infecciones bacterianas simultáneas.

Con este estudio se pretende el determinar de la seroprevalencia de SRRP en una zona de la ciudad de León, lo cual sentará un precedente de estudio sobre la enfermedad en el país. Ya que hasta la fecha no hay publicaciones sobre el tema en el país.

## **II. ANTECEDENTES**

Fue descrito por primera vez en 1987 en Carolina del Norte, Estados Unidos de Norteamérica (USA), donde fue conocida como “Enfermedad Misteriosa del Cerdo” (EMC) por la naturaleza elusiva de su agente causal, la enfermedad se diseminó rápidamente por USA y Canadá <sup>(18)</sup>. Durante el período 1990-1991 signos similares al EMC Norteamericana se reportó en Alemania (1990), donde fue llamada “Síndrome Reproductivo Respiratorio Porcino” (SRRP), luego en enero del 1991 se reportó en España y Holanda, en marzo en Bélgica, mayo en Gran Bretaña y noviembre en Francia <sup>(12)</sup>.

En 1997 fue detectado el Virus del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (VSRRP) en México según la Dirección de Sanidad animal del país <sup>(10)</sup>. En Venezuela hay presencia y aplicación de vacunas preventivas contra el virus <sup>(4)</sup>. En Colombia una tesis doctoral demostró, mediante ELISA y PCR que hay presencia del virus SRRP en el país <sup>(15)</sup>. En Panamá ha habido entrenamientos para la detección del virus, mas no ha habido detección de este en el país. Guatemala, Belice, Salvador, Honduras y Costa Rica, todos se rigen bajo los parámetros de OIRSA (establece, que la importación de cerdos, semen o embriones debe ser previamente diagnosticados negativos ante SRRP) lo que es una ventaja contra el virus, además no hay publicaciones sobre la detección del virus en ellos <sup>(8)</sup>.

En los países previamente citados no existen estudios que demuestren la seroprevalencia de la enfermedad a nivel de país.

### **III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En las explotaciones porcinas de patio la ciudad de León Santiago de los Caballeros, hay sintomatología común con la que presentan los cerdos ante un caso de infección por SRRP y no hay ningún estudio publicado que indique la seroprevalencia del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino en el país, en años anteriores.

#### **IV. JUSTIFICACIÓN**

La determinación de la seroprevalencia del SRRP, ayuda en el diagnóstico diferencial, para tomar otra directriz hacia el dictamen de un diagnóstico definitivo ante la sintomatología similar a SRRP. No existen en el país publicaciones sobre estudios de la seroprevalencia de SRRP. Con la realización de este estudio se pretende determinar la Seroprevalencia de esta enfermedad, para sugerir un plan de manejo para los reactivos, informándoles a los propietarios y autoridades correspondientes.

## **V. OBJETIVOS**

### **General:**

Determinar la seroprevalencia del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino en la zona urbana y suburbana de la ciudad de León utilizando la técnica de ELISA para captura de anticuerpos.

### **Específicos:**

Determinar el tamaño muestral en la población objeto de estudio.

Realizar el diagnóstico aplicando la técnica de ELISA.

Cuantificar, los cerdos reactivos positivos a SRRP.

Contribuir al fortalecimiento del desarrollo sanitario local, mediante la publicación y divulgación de los resultados.

## VI. MARCO TEÓRICO

### SINONIMIA:

Enfermedad misteriosa del cerdo, Aborto epizootológico de las cerdas, Aborto azul, Enfermedad de la oreja azul, Síndrome disgénico y respiratorio del cerdo <sup>(11)</sup>.

### CONCEPTO:

El Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (SRRP) es una nueva enfermedad que inicialmente se esparció como una pandemia pero, la cual se ha convertido en una enfermedad endémica en varios países del mundo <sup>(9)</sup>. Hace algunos años la documentación sobre la propagación de la enfermedad era pobre, situación que ha venido cambiando en los últimos años. El SRRP se caracteriza por defectos en la reproducción de las cerdas y problemas respiratorios de los lechones y cerdos en etapas posteriores de crecimiento <sup>(11)</sup>.

### ETIOLOGÍA:

El VSRRP se clasifica como miembro del Orden Nidoviridales, familia Arteriviridae, género *Arterivirus*, grupo Nidovirus, en el género *Arterivirus* se encuentran también el virus de la deshidrogenasa láctica del ratón, el virus de la Arteritis equina y el virus de la fiebre hemorrágica del simio. La familia Arteriviridae y Coronaviridae comparten alto grado de similitud en su organización genómica y estrategia de la expresión genérica por ser ambos del orden Nidoviridales<sup>10</sup>.

El VSRRP presenta envoltura, ARNm lineal de banda única, poliadenilado, y polaridad positiva de aproximadamente 15 kb de longitud, que ha sido secuenciado en su totalidad, en varios aislados americanos y en el aislado europeo de Lelystad. Contiene 8 fases de lectura abierta (ORFs) solapantes denominados: ORF1a, ORF1b, y ORFs 2 a 7, en sentido 5´ a 3´, organizados de forma similar a los coronavirus y un diámetro

(partículas maduras) 50-70nm, las cuales son esféricas y poseen una cápside icosaédrica de 20-30 nm<sup>(14)</sup>. Se han identificado tres proteínas estructurales principales por ser la mayoritarias en el virión: una proteína N, proteína de la nucleocápside, de 15 KDa, codificada por la ORF7; proteína M, también proteína de membrana, no glicosilada de 18KDa, codificada por el ORF6 y GP<sub>5</sub>, glicoproteína de la envoltura de 25 KDa, codificada por el ORF5. Otras tres glicoproteínas estructurales menos abundantes están codificadas por ORFs 4, 3, y 2.

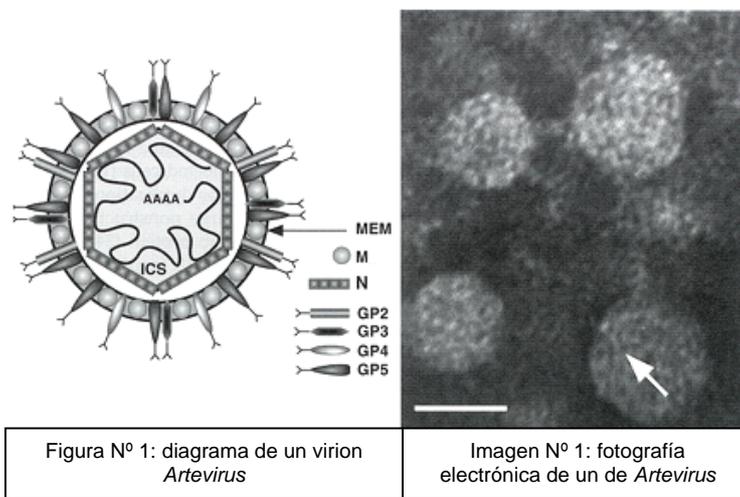


Figura N° 1: diagrama de un virion Arterivirus

Imagen N° 1: fotografía electrónica de un de Arterivirus

La proteína N es altamente antigénica y la más abundante en la partícula viral, con una región conservada en todos los aislados europeos y americanos, lo que la convierte en candidata para el diagnóstico general de todos los aislados<sup>(14)</sup>. Cada proteína estructural posee determinantes antigénicos comunes y de tipo específico que posibilitan la diferenciación entre aislados europeos y americanos. Las Gp<sub>5</sub>, Gp<sub>4</sub>, inducen anticuerpos neutralizantes en los animales infectados.

El virus infecta naturalmente a cerdos de todas las edades, replicando en el citoplasma de células del sistema mononuclear fagocítico: los monocitos y macrófagos porcinos donde origina un efecto citopático en las células infectadas. Los viriones maduros son liberados de la célula infectada por exocitosis a partir de las 9-12 horas de la infección

celular. Dos líneas celulares no porcinas, los subclones MARC-145 y CL2621, derivadas de la línea celular MA104, de riñón de mono verde, son utilizadas para la propagación del virus “*in vitro*”. Los aislados europeos son más eficientemente aislados y propagados en cultivos primarios de macrófagos alveolares produciendo la lisis celular, mientras que los aislados americanos, son aislados preferentemente en las líneas establecidas mencionadas, donde la infección produce un efecto citopático <sup>(14)</sup>.

#### Propiedades físico químicas:

Estable a temperaturas de -70 y -20°C. La infectividad se pierde lentamente cuando se almacena a 4°C (se detectan todavía bajos niveles de virus infeccioso hasta 1 mes a esta temperatura) <sup>(14)</sup>.

A 56°C se destruye en 5 minutos, en muestras clínicas el virus puede mantenerse en sueros a temperaturas de 25°C, pero no en tejidos. En carnes refrigeradas el virus puede mantenerse hasta por 48 horas. En medio ambiente seco, el virus es rápidamente inactivado, pero en medio húmedo puede mantener su infecciosidad de 1 a 9 días. La infecciosidad puede verse afectada por el pH, reduciéndose hasta en un 90% en pH inferiores a 5,0 y mayores a 7,0. <sup>(1)</sup> Estable a pH 6,5-7,5. <sup>(14)</sup>

#### Inactivantes/Desinfectantes

Sensible al tratamiento con cloroformo y éter.

Soluciones con baja concentración de detergentes.

Procedimientos de limpieza y desinfección habitual son suficientes para inactivar el virus.

#### EPIDEMIOLOGÍA:

Su transmisión puede ser directa (ejemplo: La transmisión por semen del verraco a la hembra) e indirecta (por aerosoles), afecta especies todas las especies porcinas de todo el mundo. Cuando la población sea virgen o halla estado previamente en contacto la morbimortalidad oscilara entre el 90-100%.

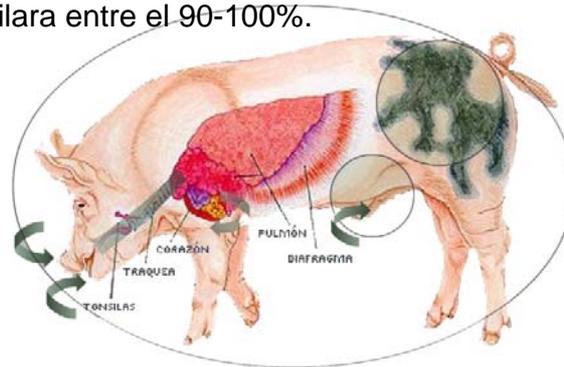


Figura N° 2: diagrama de las vías de entrada de SRRP

La mortalidad tiene relación inversamente proporcional a la edad, a mayor edad menor mortalidad. Afecta a cerdos de todas las edades, no se reproduce en fetos de manera directa. La vía de entrada es exclusivamente oro-nasal, las vías de salidas son secreción y excreción del tracto reproductor, placenta, líquido placentario, fetos abortados y secreciones del tracto respiratorio.

#### PATOGENIA <sup>(14)</sup>:

Se considera que el virus inicia la infección en el cerdo en las vías de entrada, principalmente por la ruta oro-nasal, través del epitelio nasal, tonsilar, y macrófagos pulmonares. Otra ruta a destacar es la vía vaginal donde el virus infecta el endometrio uterino. A continuación se disemina por la sangre, bien circulando libre o bien ligado a monocitos circulantes, produciendo una leucopenia. El virus alcanza los tejidos linfoides regionales y seguidamente se distribuye a nivel sistémico. Como resultado de la infección y diseminación del virus se producen los síntomas y lesiones características (neumonía, miocarditis, encefalitis, rinitis, vasculitis, linfadenopatías, etc.) en mayor o menor grado, dependiendo de la virulencia del virus. La viremia en los animales jóvenes puede durar más de un mes, pudiendo llegar el virus a distintos órganos, como

corazón, hígado, riñones, cerebro, pulmón, nódulos linfáticos peribronquiales, timo, amígdalas, médula ósea y especialmente bazo, en cuyos macrófagos se replica activamente.

En hembras gestantes el virus puede atravesar la placenta y producir la muerte de los fetos especialmente cuando la infección sucede en el último tercio de la gestación. El virus es capaz de multiplicarse también en los fetos sin producir la muerte de los mismos. Durante el primer tercio aparecen repeticiones de celo y bajas tasas de concepción, lo cual indicaría que la infección transplacentaria temprana es posible.

A pesar de las diferencias observadas en cuanto a la virulencia de distintos aislados de SRRP, incluso dentro de un mismo grupo, el tropismo hacia los distintos tejidos y la distribución de antígenos y del ácido nucleído viral es muy similar. Se han descrito cepas apatógenas de SRRP y también cepas que muestran importantes diferencias en cuanto a su virulencia para causar problemas reproductivos, y que son dependientes de cepa. Recientemente se han descrito en EE.UU casos de SRRP agudo o SRRP atípico, de alta virulencia lo que demuestra que algunas de las cepas circulantes actuales son más virulentas que las de hace unos años.

Con frecuencia durante los episodios de SRRP se presentan infecciones secundarias asociadas, como las producidas por *Haemophilus parasuis*, *Streptococcus suis*, *Salmonella cholerae suis*, *Pasteurella multocida* y *Actinobacillus pleuropneumoniae* y el virus de la Encefalomiocarditis, Aujeszky, Coronavirus respiratorio, Paramixovirus, etc.

#### CUADRO CLÍNICO Y LESIONAL <sup>(14)</sup>:

Los signos clínicos de la enfermedad son muy variables. Dependen básicamente del nivel de inmunidad de la granja, la cepa del virus y los factores de manejo reproductivo.

Las **cepas del virus** varían notablemente respecto a su virulencia:

##### -Cepas de **baja virulencia**:

Sintomatología predominante en cerdos de transición y crecimiento.

Disminución del crecimiento, disnea, aumento de mortalidad y expresión clínica de otras enfermedades.

Bajo rendimiento reproductivo en primerizas susceptibles.

-Cepas de **alta virulencia**: son las causantes de infecciones clínicas graves, que se presentan como consecuencia de la viremia aguda, presente en los cerdos y que puede ser transmitida de manera transplacentaria (principalmente en el último tercio de la gestación).

El contagio con esta cepa es frecuente en granjas inmunológicamente no expuestas:

Se pueden afectar todas las edades.

Inapetencia, fiebre y disnea.

Partos prematuros (mayores a 100 días) y en menor porcentaje partos con mayor de 115 días.

Nacidos muertos, momificados, fetos muertos y nacidos débiles.

Mortalidad pre-destete elevada (mayor 15%).

Cuadro agudo **infección epidémica**: Al inicio (2-3 semanas) se manifiesta como una enfermedad sistémica aguda que puede afectar al 5-75% de los animales (morbilidad). Los síntomas patognomónicos principales durante los primeros 1-5 días son anorexia y letargia, hipertermia (39-41°C) y disnea y cianosis en orejas, hocico, mamas y vulva en algunos animales (2-5%). En los próximos 3-10 días se produce una rápida diseminación de la enfermedad en el interior de la explotación.

•Cerdas:

1ª fase: inicia en los primeros 7-10 días:

Hay abortos entre los 21 hasta 100 días en un porcentaje del 1-5%. Hay un aumento de repeticiones del celo en forma irregulares no predecible.

Aumento de mortalidad entre 1 a 4% en cerdas, asociado a lesiones de cistitis-pielonefritis y/o edema pulmonar. En cerdas afectadas de forma muy grave se han descrito otros síntomas como: Agalaxia, incoordinación, exacerbación de otras infecciones endémicas en granja como por ejemplo: Rinitis atrófica, cistitis/ pielonefritis, sarna.

2ª Fase: 1-4 meses:

Esta segunda fase se superpone con el final de la primera fase. Es consecuencia de la transmisión transplacentaria del virus. El 5-80% de las cerdas pueden presentar contratiempos reproductivos entre los 100-118 días de gestación:

Partos prematuros o partos tardíos en menor proporción.

Nacidos muertos (0-100% de cada camada) al inicio, más tarde la siguiente secuencia: nacidos grandes parcialmente momificados, nacidos pequeños débiles, nacidos con tamaño y vigor normal. Algunas cerdas mueren en períodos alrededor del parto (1-4%).

• Verracos:

1ª Fase de la enfermedad:

Anorexia, letargia y signos clínicos respiratorios.

2ª Fase de la enfermedad:

Pueden perder el libido y tener reducciones variables de calidad de semen.

• Lechones lactantes:

Durante la Fase de 1-4 mese de contratiempos reproductivos se observa:

Elevada mortalidad (10-60%) siendo del 100% en lechones nacidos débiles prematuros.

La mortalidad es máxima en la primera semana de vida siendo más discreta en las siguientes semanas.

Los síntomas clínicos son:

- Disnea
- Quemosis grave: Hinchazón característica de párpados y conjuntiva ocular (lesión patognomónica del SRRP cuando aparecen lechones de menos de 3 semanas).
- Apatía, emaciación.

- Diarrea constante que no responde a los tratamientos.
  - Ocasionalmente: Temblores, abombamiento de la frente, trombocitopenia (hemorragia en el ombligo).
  - Aumento de infecciones por bacterias secundarias: Poliartrosis, epidermitis exudativa.
- Lechones destetados y de engorde: la infección aguda en la fase de destete y engorde se caracteriza por la aparición de cerdos con mal desarrollo, mal aspecto y gran variabilidad en el tamaño de los cerdos. Los síntomas clínicos característicos en esta fase son anorexia, disnea, hiperpnea, letargia e hiperemia cutánea. La mortalidad en estas dos fases oscila entre el 10-20% y está en función del nivel sanitario y/o manejo de la explotación. La mortalidad está estrechamente relacionada con la aparición de enfermedades secundarias presentes de forma endémica en la granja. Estas enfermedades secundarias relacionadas con el SRRP son:
- Fase de destete:  
Enfermedad de Glässer. Meningitis estreptocócica, Epidermitis exudativa, Rinitis atrófica, Colibacilosis posdestete, Poliartrosis, Sarna y Salmonelosis.
  - Fase de engorde:  
Rinitis atrófica, Pleuroneumonía porcina, Neumonía enzoótica, Poliartrosis, Salmonelosis, Sarna, Enteritis proliferativa, Disentería porcina, Colitis por Espiroquetas.
  - A nivel experimental no ha sido posible reproducir el aumento de estas enfermedades bacterianas secundarias con el virus SRRP.

**Cuadro subclínico - Infección endémica:**

- Las granjas afectadas permanecen infectadas durante largo tiempo. Esta persistencia de la enfermedad se consigue a través de varios mecanismos:
  - Eliminación de virus por animales aislados.
  - Viremia persistente o aislada.
  - Introducción continua de reposición susceptible.
  - Replicación del virus en animales destetados susceptibles.

- Los síntomas clínicos en estas subpoblaciones son los mismos que los descritos anteriormente en situación epidémica.

Las subpoblaciones de animales más afectadas en la fase de cerdas reproductoras son:

- Cerdas primerizas susceptibles.
- Verracos de reposición susceptibles.
- Cerdas adultas (menos 20%) cuando existe una fase de reinfección generalizada.

La enfermedad clínica aguda en estas subpoblaciones es como se describió anteriormente.

- Las subpoblaciones de animales más afectadas en la fase de destete y engorde son:
  - Cerdos que eliminan virus e infectan otros de menor edad susceptibles.
  - Lechones nacidos con infección persistente que eliminan virus y contaminan a otros de la misma edad que se hacen más susceptibles a la enfermedad conforme pierden la inmunidad materna.
- La manifestación reproductiva de la fase endémica depende básicamente de la cantidad de primerizas infectadas y de la fase de gestación en la que se encuentran cuando se infectan:

Al continuar la infección afectando de manera gradual y al azar, ocasiona:

- Repeticiones acíclicas de forma impredecible
- Abortos
- Cerdas vacías
- Camadas anormales.

Si ocurre una infección conjunta (número significativo de primerizas afectadas) y en diferentes fases de gestación: se producen reinfecciones periódicas en cerdas primerizas y posiblemente en cerdas de otros partos, principalmente de segundo parto. Los síntomas clínicos de los animales afectados son iguales a los descritos en un brote epidémico pero con menor intensidad.

La sintomatología clínica descrita anteriormente debe de considerarse como lo más frecuente, no obstante puede ocurrir que no existan síntomas clínicos en la fase

reproductiva y que solo existan en la fase de destete-crecimiento o que no existan características clínicas uniformes en ninguna fase de producción. Es pues importante considerar que pueden existir muchas variedades de expresión clínica.

Cuadro lesional:

Las lesiones macroscópicas y microscópicas se localizan principalmente en lechones recién nacidos y en animales destetados (transición). En condiciones de campo los animales afectados están infectados con uno o más agentes patógenos de forma simultánea. Las lesiones en el aparato reproductor no están bien caracterizadas y se observan con menor frecuencia.

- Lechones recién nacidos

Pulmones: Moteados de color pardo-rojo y no se colapsan. La parte más afectada normalmente es la porción cráneo-ventral aunque puede afectarse todo el pulmón. Es difícil, a veces, reconocer la parte afectada y no afectada.

- Lechones destetados

Pulmones: No se colapsan y tienen una cantidad variable de moteado pardo y rojo.

- Cerdos de engorde

Lesiones similares pero menos pronunciadas que las que se ven en cerdos de transición. Las lesiones pulmonares se complican por infecciones mixtas (*Mycoplasma hyopneumoniae*, *Pasteurella multocida*, virus de la influenza) que producen lesiones pulmonares de color oscuro con presencia de consolidaciones del 30-70% del pulmón.

- Verracos

No se observan lesiones constantes o atribuibles al virus del SRRP en los verracos.

- Cerdas

En general, no hay lesiones en la cerda gestante

- Fetos

Las lesiones fetales no se observan constantemente y no son características del SRRP. La lesión macroscópica más constante es la hemorragia del cordón umbilical y el edema perirenal y mesentérico en fetos infectados.

DIAGNÓSTICO <sup>(14)</sup>:

Las manifestaciones clínicas del SRRP son variables existiendo muchos factores que dificultan el correcto diagnóstico de la enfermedad.

La forma subclínica de la enfermedad (endémica) es frecuente en las explotaciones no existiendo, a menudo, claros síntomas clínicos que aseguren la ausencia de enfermedad.

En el diagnóstico de esta enfermedad deben de considerarse los siguientes factores:

- Historial clínico de la explotación, signos clínicos, y lesiones.
- Registros de producción, serología y detección del virus.

En general se debe de sospechar de la enfermedad cuando existen signos clínicos de enfermedad respiratoria y/o insuficiencia reproductiva y/o bajo rendimiento productivo.

En una fase clínica clara de la enfermedad, la duración de la misma puede variar entre 1-4 meses o más tiempo ya que depende de la velocidad con la que se transmite la enfermedad dentro de la explotación (influenciada por el diseño de la explotación, movimiento de animales dentro de la misma y sistema de producción utilizado).

Los registros pueden ser de gran ayuda para el diagnóstico de un SRRP activo:

- Incremento de abortos: Mayor 20%
- Incremento de partos prematuros: Mayor 5%
- Disminución de N. vivos: mayor 5-10%
- Aumento mortalidad pre-destete: Mayor 30%
- *Disminución fertilidad: Mayor 10%*

En una infección subclínica: las variaciones en los registros se observan mayoritariamente en cerdas con pocos partos (menores 3 partos). Este hecho dificulta el diagnóstico de la enfermedad a través de los registros.

El diagnóstico definitivo depende de la toma y envío de muestras adecuadas y técnicas de laboratorio utilizadas en serología y detección del virus.

TRATAMIENTO:

NO HAY TRATAMIENTO ESPECIFICO PARA EL SRRP. Pero se pueden aplicar algunos tratamientos paliativos para evitar las infecciones secundarias y recaídas causadas por el estrés, como lo son vitaminas protectoras de las mucosas respiratorias como la Vitamina E, aplicando complejos AD<sub>3</sub>E, además la aplicación de antibióticos de amplio espectro, para evitar la contaminación por agentes bacterianos secundarios.

PREVENCIÓN, CONTROL Y PROFILAXIS:

En función del tipo y estado sanitario de la explotación, libre o portadora del virus, las medidas de prevención y control son diferentes.

Explotación libre: El principal objetivo es continuar manteniendo la explotación libre.

El origen primario en la transmisión de la enfermedad es el cerdo infectado. En el caso de una explotación libre de la enfermedad, es por tanto esencial realizar las siguientes actuaciones pudiendo darse dos situaciones que dependen fundamentalmente del tamaño de la explotación y de la estructura organizativa y posibilidades de la misma:

**A.** No introducir animales, si el tamaño de la explotación (mínimo 400 madres) permite tener un stock de abuelas y bisabuelas para practicar la autoreposición en la propia granja, garantizando el progreso genético vía semen previamente analizado (por técnicas de detección viral como la PCR).

**B.** En el caso de tener que introducir la reposición del exterior, serían recomendables los siguientes pasos:

- Introducir animales procedentes de una explotación negativa. Debe de existir además un programa de monitorización de la enfermedad en la granja de origen que sea conocido igualmente por el veterinario responsable de la granja receptora.

- En el caso de que los animales fueran positivos, todos los animales deben ser retirados del edificio y comercializarlos como animales de abasto.

Tanto en un caso como en otro, se hace imprescindible la aplicación de medidas de bioseguridad específicas en la explotación:

\*Vestuarios: Obligar al cambio total de ropa y lavado de manos en explotaciones con menos de 500 cerdas. En cerdas de mayor tamaño es recomendable obligar la práctica de ducha obligatoria. En todos los casos es recomendable respetar un mínimo de 24 horas sin haber tenido contacto con otros cerdos.

\*Realizar la carga de los animales a primera hora del día en un lunes y que el camión haya estado en reposo un mínimo de 12 horas después de lavar y desinfectar adecuadamente.

\*Cargador: evitar la reentrada de líquidos y animales. No permitir la entrada del chofer del camión dentro del recinto y prohibir que el personal de la granja entre dentro del camión.

Así mismo se deberá introducir los animales en un local de cuarentena que cumpla las siguientes normas de bioseguridad:

- Período de estancia mínimo de 30 - 40 días.
- Separado de la granja un mínimo de 2 kilómetros.
- Visitar al final del día.
- Utilizar botas, monos y material sanitario (agujas, jeringuillas,..) exclusivo de la instalación.

Y realizar los siguientes controles: análisis serológicos a los 14 días de la llegada, análisis serológicos una semana antes de salir del local.

Después de vaciar el local: Limpiar con agua caliente, desinfectar con formaldehído, período de descanso de 7 días antes de introducir nuevos animales.

*Explotación portadora:* El factor clave en el control de esta enfermedad es la disminución de la diseminación del virus dentro de la granja (previene la infección de la descendencia antes del destete) y la prevención de la formación de subpoblaciones seronegativas, verdaderas responsables de los brotes agudos e irregulares de esta enfermedad. ¿Cómo conseguir este objetivo? Se han descrito múltiples estrategias sanitarias para conseguir controlar la enfermedad de forma efectiva. Uno de los protocolos más recomendados es el siguiente:

1. Conocer la situación:

Para conseguirlo es necesario realizar un estudio serológico de la población existente en una granja. El uso de seroperfiles transversales utilizando ELISA a todos los niveles productivos es de gran ayuda para conocer cuál es el estado de la infección. Con esta información se conoce la prevalencia de la infección y el sistema de transmisión vírica dentro de una explotación. Utilizando técnicas de detección viral (PCR) ayuda a concretar mucho más donde se encuentra realmente el virus dentro de una granja. La realización de seroperfiles seriados cada 4 semanas en cerdos destetados es de gran ayuda para conocer el momento de seroconversión, sin olvidar que en presentaciones agudas de la enfermedad, los lechones ya salen virémicos de la paridera.

La utilización de ambos tipos de seroperfiles es clave para una adecuada evaluación diagnóstica. Cualquier tipo de seroperfil debe de realizarse antes de la práctica de cualquier plan vacunal ya que todavía existen dificultades para determinar si los anticuerpos proceden de una vacuna o son de origen campo.

El envío de tejidos procedentes de animales afectados para la identificación del virus apoya normalmente la interpretación serológica.

2. Controlar la estructura censal de la explotación:

Es recomendable controlar la estructura del censo permanentemente. Las elevadas producciones de algunas explotaciones o el exceso de desecho de animales por mal manejo, falta de control sanitario o instalaciones inadecuadas está provocando situaciones de elevado reemplazo que posibilita una mayor expresión del virus. Los objetivos en el control de la estructura censal son los siguientes: mantener un mínimo del 70-75% de cerdas con 2<sup>o</sup>-7<sup>o</sup> parto y controlar que las pérdidas intraparto no sean superiores al 12-15%.

3. Estabilizar el virus: Planificar adecuadamente la entrada de nuevos animales:

En la estabilización del virus es básico e imprescindible manejar de forma adecuada la entrada de nuevos animales con la finalidad de controlar la diseminación del virus dentro de la granja y la formación de subpoblaciones. Para alcanzar este objetivo se deben de realizar los siguientes pasos:

- Conocer el nivel de infección de las primerizas y/o verracos y compararlo con el nivel de infección de la granja receptora.
- Establecer programas de introducción de animales utilizando locales de aislamiento y adaptación sanitaria. Es recomendable que los nuevos animales sean siempre negativos puesto que al existir un número importante de cepas diferentes del mismo virus, es muy probable que la entrada de primerizas positivas de SRRP en una explotación también positiva signifique la entrada de una nueva cepa en la granja receptora.
- Cuanto mayor es la diferencia entre ambas poblaciones mayor es el tiempo necesario para adaptar a los nuevos animales.

Un programa de adaptación recomendado podría ser el siguiente:

- o Duración mínima del período de adaptación: 8-9 semanas.
- o 1 semana: aclimatación al local.
- o 2-3 semanas: contacto directo (nariz con nariz) con animales excretores del virus, aunque si la granja receptora está estabilizada, la contaminación es muy irregular y se pueden generar las primeras subpoblaciones. En EE.UU están ensayando inoculaciones intranasales con material contaminado procedente de lechones de la propia granja para garantizar la infección de todos los animales de reposición, en este caso aunque los resultados son aún muy preliminares, se corre el riesgo de trabajar con concentraciones víricas desconocidas por lo que la respuesta puede igualmente ser irregular.

Para una adecuada elección del material infectante: normalmente en los lechones entre 4 - 12 semanas es donde recircula más el virus y por lo tanto son animales con elevadas posibilidades de infectar el nuevo ganado. En explotaciones diseñadas para practicar segregación de lechones existen problemas para elegir el material infectante. En este caso los animales que con mayor probabilidad han padecido una infección reciente es el último lote de primerizas siendo recomendable dejar algunas primerizas del lote anterior para que infecten el siguiente lote. Puede ocurrir una situación semejante en aquellas explotaciones que después de practicar un programa adecuado

de adaptación durante tiempo se van estabilizando resultando igualmente difícil encontrar material infectante adecuado.

5-6 semanas: aislamiento para evitar excreción viral en granja.

Según el programa de adaptación escogido la entrada de los animales se puede realizar a diferentes pesos (desde el mismo día de vida hasta los 100 kilos).

Una vez finalizado cualquier tipo de programa de adaptación es importante evaluar el nivel de infección mediante análisis serológico antes de introducir los nuevos animales en la explotación receptora.

4. Optimizar la ingesta de calostro:

En el calostro se encuentran la mayoría de defensas necesarias para proteger la salud del recién nacido a lo largo de su vida. El espectacular aumento de la prolificidad conseguido por las empresas de genética obliga a prestar una mayor atención a este tema puesto que la posibilidad de que existan lechones que no ingieren suficiente calostro durante las 12 primeras horas de vida es mayor si no existe un buen manejo en esta fase. La mayoría de lechones (95%) que maman de cerdas SRRP positivas tienen títulos positivos a los 3-8 días de vida. La adecuada ingesta de calostro puede prevenir recirculaciones en maternidades. Esta situación se complica enormemente en lechones hijos de primerizas, en los que la inmunidad pasiva recibida a través del calostro es sumamente deficiente.

5. Manejo específico de lechones:

Cualquiera que sea la estrategia que se utilice para controlar la enfermedad subclínica en los lechones destetados no será efectiva si los animales destetados están activamente infectados antes del destete.

Las estrategias más utilizadas son:

*Segregación de lechones:* se utiliza para evitar la transmisión lateral de la infección. Con este sistema se han obtenido importantes mejoras en la ganancia de peso diaria y en la mortalidad y por lo tanto en los datos económicos.

*Vacunación de lechones de 3 - 16 semanas de edad:* es importante aplicar la vacunación antes de la infección. Las vacunas vivas atenuadas obtenidas a partir de

cepas europeas están dando buenos resultados. No obstante, cuando se utilizan vacunas vivas atenuadas es recomendable practicar la vacunación en lechones que están alojados en emplazamientos diferentes a las cerdas reproductoras.

En el caso de que exista un elevado nivel de infección a nivel de lechones lactantes se recomienda minimizar al máximo el movimiento de lechones lactantes entre camadas durante las primeras 24 horas de vida, mantener el flujo de animales utilizando de forma estricta el sistema todo dentro - todo fuera y sacrificar los animales infectados de forma crónica.

#### 6. Estabilizar la enfermedad con vacunas:

Se han utilizado vacunas de virus vivo atenuado para provocar una respuesta inmune consistente en toda la población adulta. El uso de este tipo de vacunas queda a discreción del veterinario pero es importante tener en cuenta que la vacunación de cerdas no inmunes preñadas durante el último tercio de gestación puede producir infección fetal.

Últimamente se están utilizando nuevas vacunas inactivadas que se aplican a las cerdas primerizas antes de introducirlas en la explotación. Algunos resultados indican que se consigue una estabilización real de la granja de reproductoras, no obstante, es necesario esperar un tiempo para confirmar estas sospechas.

De todas formas, la lógica nos indica que este tipo de programas vacunales deberían iniciarse a edades tempranas de la reposición y llegar al parto con algunas revacunaciones.

#### Vacunas:

Actualmente se disponen de vacunas comerciales vivas atenuadas e inactivadas, que utilizan como inmunógenos cepas americanas o Europeas. Estas vacunas reducen en mayor o menor grado los síntomas clínicos de la enfermedad y la duración de la viremia, pero no evitan la infección por el virus de campo.

Existen variaciones en cuanto a la eficacia de estas vacunas, que son principalmente debidas a la cepa de virus SRRP que esté circulando en la explotación, la situación epidemiológica, el tipo de animales alojados, los procedimientos de manejo empleados, etc.

En la actualidad se continúa trabajando para el desarrollo de nuevas vacunas más eficaces que eviten los problemas derivados de la gran diversidad existente entre los diferentes aislados virales de SRRP.

#### Erradicación <sup>(6)</sup>:

Despoblación – Repoblación: Esta estrategia tiene una efectividad del 100%. Es un método costoso que no es posible practicar en zonas de elevada densidad porcina ni en explotaciones convencionales.

Test & Removal <sup>(6)</sup>: Método desarrollado por S. Dee y Col. de erradicación del SRRP basado en la detección y eliminación de animales portadores del virus en granjas donde se realiza la segregación de lechones. Consiste en detectar y eliminar subpoblaciones infectadas y evitar el mantenimiento de la transmisión vertical. El uso de técnicas de diagnóstico ELISA y PCR determinan la detección de animales positivos de forma que se previene la infección de los lechones antes del destete. Para ello se realizan durante varios meses (hasta que pasen todas las reproductoras de la granja) detección de anticuerpos y antígenos en sangre (suero) mediante técnicas ELISA y PCR en las salas de gestación. Este método se ha puesto en marcha en explotaciones donde la prevalencia es muy baja (+/-10%). El criterio analítico de eliminación de animales basado en el resultado de las pruebas ELISA y PCR es el siguiente <sup>(14)</sup>:

ELISA	PCR	Interpretación	Acción a realizar
+	+	Virémica	Eliminar
+	-	Expuesta/infectada??	Eliminar
-	+	Virémica	Eliminar

-	-	No infectada	Mantener
Tabla Nº 1: Interpretación de los resultados aplicando Test & Removal			

Según los resultados expuestos en la siguiente tabla eliminaremos todas aquellas cerdas que estén virémicas (ELISA + PCR+), infectadas o sospechosas de haber estado en contacto con el virus (ELISA+ PCR- o ELISA- PCR+), dejando en la granja sólo aquellas con resultados negativos a ambas pruebas.

En el caso de cerdas sospechosas (ELISA+ y PCR-) se trasladan a otro sitio, se dejan parir y se eliminan rápidamente tras el destete. Asimismo no se deben introducir cerdas de reposición en 4 meses y se seleccionan los reemplazos de la propia granja.

Será necesario posteriormente medidas estrictas de bioseguridad frente a nuevas reinfecciones tales como:

- Control de la reposición.
- Control del semen.
- Lavado y desinfección de vehículos (secado con aire caliente).
- Control del personal.
- Control de vectores (moscas).
- Plan de erradicación zonal o regional.

## **VII. HIPOTESIS**

La prevalencia esperada es igual a la prevalencia observada.

## **VIII. MATERIAL Y MÉTODOS**

Se realizó un estudio para determinar la seroprevalencia de SRRP en cerdos de la zona urbana y suburbana de la ciudad 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)

Para la realización del muestreo en el territorio se tomó como referencia la distribución de vigilancia epidemiológica del Ministerio de Salud (MINSA) en el SILAIS de León.

La población porcina en el municipio de León, según (CENAGRO 2001) <sup>(7)</sup> se estableció en 8260 cabezas, de los cuales 5790 son criados en traspatio y 2470 son criados en granjas.

Se estudio por condiciones fisiológicas y de mercado los cerdos machos y hembras mayores de 4 meses de la zona urbana y suburbana de la ciudad de León.

Se estimó que la población de cerdos de la zona urbana y suburbana de la ciudad de León <sup>(7)</sup> es de 6521 de los cuales 4571 son criados en traspatio representando el 70.1 % y 1950 son criados en granjas representando esto el 29.9 % de la población total. (CENAGRO 2001).

Se tomó como población objeto de estudio a 2232 cerdos mayores de cuatro meses de edad en crianza traspatio.

Tipo de estudio:

El estudio es de tipo transversal.

Tamaño de la muestra:

Para la determinación del tamaño de muestra, se realizó el cálculo utilizando el programa Win Episcopo 2.0, estimación de porcentajes. A partir de una población de 2232 cerdos (hembras y machos mayores de 4 meses), con una prevalencia esperada del 6.6%, un error aceptado del 5% y un nivel de confianza del 95%. El tamaño de la muestra según el programa es de 92 cerdos, mayores de cuatro meses, sin distinción de sexo.

## MÉTODOS

Toma de muestra de sangre <sup>(3)</sup>

La extracción sanguínea se realizó por punción de la yugular externa lo que garantizó una muestra sanguínea de calidad, libre de restos de tierra, pelos, heces y en cantidad suficiente para disponer de suero para hacer las correspondientes pruebas diagnósticas.

En los cerdos de raza precoz el animal se inmoviliza a lazo y se aborda la vena yugular externa. El proceso de fijación consiste en introducir el lazo por la jeta procurando llegar por detrás de los colmillos superiores (diente canino) a fin de garantizar que el animal no se escape y que no pueda golpear o arrollar, aunque lo normal es enlazarlos por detrás de la jeta. Siempre hay que estar pendiente de los movimientos de la cabeza del animal ya que la situación de pánico que expresa se acentúa cuando nos acercamos de manera rápida.

Luego de extraída la sangre, inmediatamente se transfirió a un tubo de ensayo estéril, sin anticoagulante, y se transportó hacia el laboratorio de patología de la escuela de Medicina Veterinaria UNAN-LEÓN en un termo refrigerado o directamente en la gradilla, teniendo las precauciones de no agitarlo, no exponerla a rayos solares directos, para evitar se dañen las muestras.

Separación del suero sanguíneo de la muestra de sangre:

Para la separación del suero sanguíneo, se centrifugó la muestra en los tubos de ensayo de 5ml, en una maquina centrifugadora, a una velocidad de 3000 rpm. por 3 minutos, luego con una pipeta estéril, se extrajo el suero y se colocó en microviales estériles, luego estos fueron utilizados o congelados.

APLICACIÓN DEL KIT PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS DEL SÍNDROME RESPIRATORIO Y REPRODUCTIVO PORCINO <sup>(9)</sup>:

Nombre y utilización recomendada:

El kit HerdChek\*PRRS 2XR, es un ensayo inmunoenzimático de IDEXX para la detección de anticuerpos contra el virus del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (SRRPV) en el suero de cerdo, que utiliza antígenos del virus del SRRPV y de células huéspedes normales (normal host cells. NHC).

Descripción:

HerdChek\*PRRS 2XR es un ensayo inmunoenzimático diseñado para detectar la presencia de anticuerpos con SRRPV en suero porcino. Se ha configurado un formato de microtitulación mediante aplicación de columnas de antígenos SRRPV y NHC alternadas en placa. Cuando se incuba la muestra en el pocillo tapizado, los anticuerpos específicos contra SRRPV forman un complejo con los antígenos virales del tapizado, los anticuerpos específicos contra SRRPV forman un complejo con los antígenos virales del tapizado. Los antígenos NHC tapizados en la placa se emplean para determinar si las inmunoglobulinas contra los componentes del cultivo contribuyen

a los resultados de la prueba. Después de lavar y eliminar el material no fijados en los pocillos, se añade un conjugado anti-porcino-peroxidasa que se une a los anticuerpos porcinos fijados en los pocillos. Durante la última etapa de la prueba, se elimina el conjugado no fijado, y se agregan en los pocillos un sustrato enzimático (peróxido de hidrógeno) y un cromógeno, 3,3',5,5' tetrametilbencidina (TMB). La magnitud de la contribución de las células huéspedes a la señal total se evalúa relacionando la actividad SRRPV con al reactividad NHC.

Precauciones y advertencias:

- Manipular todos los materiales biológicos de SRRPV como fuentes potenciales de contaminación con el SRRPV.
- No pipetear con la boca.
- No se debe fumar, comer ni beber en los lugares de manipulación de muestras o de reactivos del kit.
- El sustrato TMB y la solución de interrupción pueden irritar la piel y los ojos.
- Algunos componentes del kit contienen azida de sodio como conservador. Debe tenerse especial cuidado de no contaminar el conjugado antiporcino: HRPO con ese conservante.
- No exponer las soluciones de TMB a la luz fuerte o a agentes oxidantes. Manipular todas las soluciones de sustrato TMB con artículos de plástico o de vidrio muy limpios.
- Almacenar todos los reactivos a 2<sup>o</sup>-7<sup>o</sup>C después del uso.
- Todos los desperdicios deben ser adecuadamente descontaminados antes de desecharlos.
- Debe tenerse gran cuidado de no contaminar ninguno de los componentes del kit.
- No utilizar componentes que hayan sobrepasado su fecha de caducidad y no mezclar componentes de lote diferentes.
- Los resultados óptimos sólo se conseguirán con el respeto estricto de este protocolo. El cuidado en los procedimientos de aspiración, aplicación, control de tiempos y lavado son indispensables para mantener la precisión.

Preparación de las muestras:

Se diluyeron las muestras de la prueba a 1:40 con el diluyente de muestras. **NOTA: No se diluyeron los controles.** Asegurándose de cambiar de puntas para cada muestra, y registrando la posición de cada muestra en la placa mediante una hoja de trabajo. Las muestras se mezclaron antes de aplicarlas a la placa tapizada con SRRPV/NHC.

	P R R S V	N H C	P R S V	N H C								
A	P	P	5	5								
B	P	P	6	6								
C	N	N										
D	N	N										
E	1	1										
F	2	2										
G	3	3										
H	4	4										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Tabla N° 2: correcto posicionamiento de las muestras de suero sanguíneo en la placa de ELISA

N= Control negativo

P= Control positivo

1, 2, 3, etc.= Número de la muestra

Las columnas 1, 3, 5, 7, 9 y 11 están tapizadas con antígeno SRRPV

Las columnas 2, 4, 6, 8, 10 y 12 están tapizadas con antígeno NHC.

Preparación de la solución de lavado

El concentrado de lavado se disolvió con agua destilada/desionizada antes del uso.

Procedimientos para la realización de la prueba ELISA:

Se dejó que todos los reactivos llegaran a la temperatura ambiente antes de usarlos. Los reactivos se mezclaron mediante agitación suave o vortex.

1. Se obtienen las placas tapizadas de antígeno y registrar la posición de la muestra en una hoja de trabajo.
2. Se aplican 100 µl de control negativo SIN DISOLVER en los pocillos SRRPV C1 y D1 y en los pocillos NHC C2 y D2.
3. Se aplican 100 µl de control positivo SIN DISOLVER en los pocillos SRRPV A1 y B1 y los pocillos NHC A2 y B2.
4. Se aplican 100 µl de la muestra DISUELTA en los pocillos adyacentes SRRPV y NHC. Todas las muestras deben ser analizadas por duplicado.
5. Se incuba durante 30 minutos a temperatura ambiente.
6. Se aplica el contenido líquido de todos los pocillos y arrojar en un recipiente de desperdicios adecuado.
7. Se lava bien cada pocillo con aproximadamente 300 µl de lavado tampón fosfato, entre tres y cinco veces. Aspira el contenido de todos los pocillos después de cada lavado. No permitir que las placas se sequen entre uno y otro lavado, o antes de añadir el conjugado. Después de la última aspiración de líquido de lavado, golpear ligeramente pero con firmeza cada placa para conseguir que el fluido de lavado residual se elimine en algún material absorbente dispuesto al efecto.
8. Se aplican 100 µl de conjugado Anti-porcino: HRPO en cada pocillo.
9. Se incuba durante 30 minutos a temperatura ambiente.
10. Se repiten los pasos 6 y 7.
11. Se aplican 100 µl de solución de sustrato a cada pocillo de placa.
12. Se incuba durante 15 minutos a temperatura ambiente.
13. Se añaden 100µl de solución de interrupción a cada pocillo de la placa para detener la reacción.
14. Se mide y registra la A(650) de las muestras y de los controles.
15. Se calcula los resultados.

## Resultados:

Para que el ensayo sea válido, deben seguirse las especificaciones siguientes.

La media del control positivo de SRRPV (PC: SRRPV) menos en el NC:SRRPV, debe ser igual o mayor a 0,150. En los pocillos tapizados NHC, el control positivo (PC:NHC) debe ser menor o igual a 0,250. Además la media del control negativo (NCx) debe ser menor o igual que 0,150. Si la prueba es inválida, habrá dudas en cuanto a la técnica empleada, y deberá repetirse después de un examen detallado de las instrucciones que acompañan a este producto.

El control positivo ha sido estandarizado y representa un nivel significativo de anticuerpos anti-SRRPV en el suero porcino. El antígeno de células huésped normales proporciona una medida de la contribución del NHC a la señal total de antígeno contra el SRRPV. La presencia o ausencia de anticuerpos contra el SRRPV se determina calculando el coeficiente muestra sobre positivo (S/P).

Ver los ejemplos en la sección Cálculos.

## Interpretación de los resultados:

La presencia o ausencia de anticuerpos contra SRRPV se determina calculando el coeficiente S/P de cada muestra.

1. Si el coeficiente S/P es inferior a 0,4, la muestra se clasifica como NEGATIVA para anticuerpos contra SRRPV.
2. Si el coeficiente S/P es superior o igual a 0,4, la muestra se clasifica como POSITIVA para anticuerpos contra SRRPV.

## Cálculos:

1. Cálculo de la media de control negativo (NC:SRRPV)

Antígeno SRRPV (Pocillos C1, D1)

$$NC : PRRSV = \frac{C1A(650) + D1A(650)}{2}$$

2. Cálculo de media de control positivo (PC:SRRPV), PC(NHC)

Antígeno SRRPV (Pocillos A1, B1)

$$PC : PRRSV = \frac{A1A(650) + B1A(650)}{2}$$

NHC (Pocillos A2, B2)

$$PC : NHC = \frac{A2A(650) + B2A(650)}{2}$$

3. Cálculo del coeficiente muestra sobre positivo (S/P).

$$(S/P) = \frac{(MuestraA(650) : PRRSV) - (MuestraA(650) : NHC)}{(PC : PRRSV) - (PC : NHC)}$$

### **Sensibilidad y Especificidad de la Prueba.**

Son como sigue: Sensibilidad 97.4 %, Especificidad 99.6 %

## MATERIALES

1. Jeringas desechables de 10 ml.
2. Aguja desechables calibre 21 x 1.5'
3. Tubos de ensayo de 5ml sin anticoagulante
4. Alcohol al 70%
5. Algodón.
6. Gradillas.
7. Guantes de látex.
8. Fichas de registro.
9. Axial
10. Termo contenedor de muestras.
11. Pipetas de precisión, adecuadas para aplicaciones de 10 $\mu$ l, 100 $\mu$ l o dispositivos de multiaplicación.
12. Puntas de pipetas desechables.
13. Probetas graduadas: 500 ml para medir la solución de lavado.
14. Microviales.
15. Lector de placas de 96 pocillos.
16. Papel Toalla.
17. Tubos de plástico o de vidrio para la dilución de muestras.
18. Agua destilada o desionizada.
19. Kit ELISA:

Almacene todos los reactivos entre 2<sup>o</sup>-7<sup>o</sup>C. para uso veterinario solamente.

Reactivos:	Cantidad
<b>A.</b> Tiras/placas tapizadas con antígeno del SRRPV.	5
<b>B.</b> Conjugado anti-porcino: HRPO. contiene gentamicina como conservador.	60ml
<b>C.</b> Control positivo SRRPV. Anti-SRRPV porcino en tampón fosfato con estabilizadores proteicos. Contiene azida de sodio como conservador.	4ml

<b>D.</b> Control negativo porcino. Suero porcino no reactivo al SRRPV en tampón fosfato con estabilizadores proteicos.	4ml
<b>E.</b> Diluyente de muestra. Tampones fosfato con estabilizadores proteicos. Contiene azida como conservante.	150ml
<b>F.</b> Concentrado de lavado. Tampón fosfato/Tween 10x. contiene gentamicina como conservante.	235ml
<b>G.</b> Sustrato TMB. 3,3',5,5' tetrametilbencidina(TMB)	60ml
<b>H.</b> Solución de interrupción.	60ml

## **IX. RESULTADOS**

1. La seroprevalencia del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino en cerdos de patio de la zona urbana y suburbana de la ciudad León en el período de estudio, es igual a cero.
2. La distribución por zona de vigilancia epidemiológica del Ministerio de Salud (MINSa) en el SILAIS de León, no resulta significativa.
3. De acuerdo con la información obtenida rechazamos la hipótesis nula.

## **X. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS**

1. Siendo la seroprevalencia de SRRP igual a cero, las enfermedades que afectan a los cerdos de patio de la ciudad de León con diagnóstico presuntivo SRRP, no son SRRP.
2. Es posible que las condiciones climatológicas de la ciudad de León no permitan la proliferación del virus en el ambiente.
3. Debido a la pobre aplicación de técnicas de mejoramiento racial, hay una utilización de cerdos criollos con poca pureza por lo que no se importan cerdos, semen ni embriones provenientes de países con piaras infectadas.

## **XI. CONCLUSIONES**

Se ha determinado que de acuerdo con las condiciones para la aplicación del estudio de seroprevalencia del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (SRRP) en cerdos, la seroprevalencia es cero.

Se rechaza la hipótesis nula.

Los resultados del análisis según los distintos niveles de negatividad se expresan en las tablas de anexos 1, 2, 3, 4 y 5.

## **XII. RECOMENDACIONES**

- Incluso siendo la prevalencia resultante igual a cero, es importante continuar el monitoreo de los reproductores, para evitar la penetración de la enfermedad en las piaras de la ciudad y mantener el estatus.
  
- Orientar a los porcinocultores, que adquieran los cerdos, de granjas con certificación libre de SRRP.
  
- Aplicar las leyes de importación de cerdos de OIRSA para evitar la penetración de sementales, semen y embriones contaminados al país. OIRSA ha establecido los parámetros para el ingreso del semen y embriones procedentes de fuera de la zona y ha estandarizado una serie de requerimientos para permitir el ingreso. Entre estos requisitos esta la certificación serológica negativa ante SRRP.

### XIII. BIBLIOGRAFÍA

1. COLLINS, J., D. A. BENFIELD, W. T. CHRISTIANSON, L. HARRIS, J. C. HENNINGS, D. P. SHAW, S. M. GOYAL, et.al. (1992). Isolation of swine infertility and respiratory syndrome virus (isolate ATCC VR-2332) in North America and experimental reproduction of the disease in gnotobiotic pigs. **J. Vet. Diagn. Invezt. 4: 117- 126.**
2. DONE S.H., PATON D.J. & WHITE M.E.C. (1996). Porcine reproductive and respiratory syndrome (SRRP): a review, with emphasis on pathological, virological and diagnostic aspects. *Br. Vet. J.*, **152**, 153–174.
3. CARMONA B. JOSE MIGUEL. (2008). Protocolos de extracción sanguínea en el cerdo.  
Homepage: <http://www.3tres3iberico.com/sanidad>.  
Fecha y hora de consulta: 26 de Enero del 2009, 10:27am
4. Utrera V., J.P. Cano, D. Fuentes, Z. García, L. Batista, y C. Pijoan, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela. ACLIMATACIÓN DE HEMBRAS DE REEMPLAZO: primer plazo para el control del Síndrome y Respiratorio Porcino?  
Homepage: <http://www.edv.com.ve/.articulos/13.pdf>  
Fecha y hora de consulta: 19 de Junio del 2009, 10:25 am
5. Patricio Retamal, M.V.; Carlos Navarro, B.Q.; Sergio Espinoza, M.V.; Nieves Sandoval, M.V.; Jorge Contreras, M.V.; José Pizarro, B.O., Dr. Cs. M. Orfelía Celedón, M. V., M.S. SINDROME RESPIRATORIO Y REPRODUCTIVO PORCINO: Una revisión(2001)

Homepage: [http://www.monografiasveterinaria.uchile.cl/CDA/mon\\_vet\\_completa/0,1421,SCID%253D7971%2526SID%253D416,00.html](http://www.monografiasveterinaria.uchile.cl/CDA/mon_vet_completa/0,1421,SCID%253D7971%2526SID%253D416,00.html)

Fecha y hora de consulta: 28 de Diciembre del 2008, 2:00 am

6. UNIVERSIDAD DE CORDOBA, España

Homepage: <http://www.uco.es/dptos/sanidad-animal/img/infecciosas/SRRP.pdf>

Fecha y hora de consulta: 24 de Marzo del 2009, 09:00 am

7. III Censo Nacional Agropecuario.

Homepage: <http://www.inec.gob.ni/cenagro/Municipios/portaleon.htm> Cuadro N° 32.

Fecha y hora de consulta: 16 de Abril del 2009, 11:57 am

8. Kit para la detección de anticuerpos contra el virus del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino. **ELISA HerdCheck**® **SRRP ELISA** (IDEXX Laboratorios inc., Westbrook, Maine).

9. LÓPEZ LUCÍA. Gaceta Universitaria

[www.gaceta.udg.mx/Hemeroteca/paginas/59/4-59.pdf](http://www.gaceta.udg.mx/Hemeroteca/paginas/59/4-59.pdf)

10. Manual de la OIE sobre animales terrestres 2004. **Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino. Capítulo 2.6.5.**

11. OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. (1992). **World Animal Health 1991. Volume VII. Number 2 Animal Health Status and Disease Control Methods (part one: Reports), p.126.**

12. Patricio Retamal, M.V.; Carlos Navarro, B.Q.; Sergio Espinoza, M.V.; Nieves Sandoval, M.V.; Jorge Contreras, M.V.; José Pizarro, B.O., Dr. Cs. M. Orfelía Celedón, M. V., M.S.

13. Sánchez-Vizcaíno J. M Dr. Curso Digital de Enfermedades Infecciosas Porcinas. (Enfermedad de SRRP). Ed. 2003 CD. ROM.
  
14. UNIVERSITAS SCIENTIARUM, Revista de la Facultad de Ciencias, PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA. Págs. 69-74.  
Homepage: [http://www.javeriana.edu.co/universitas\\_scientiarum/universitas\\_docs/scientiarum%20vol%208%20n%202/resu%2011.pdf](http://www.javeriana.edu.co/universitas_scientiarum/universitas_docs/scientiarum%20vol%208%20n%202/resu%2011.pdf)  
Fecha y hora: 19 de Junio del 2009, 10:00am
  
15. Velásquez QF, Vázquez NJ, Mancera MA, Díaz AE, Tercero AM, García V. y Morilla GA, Manual de Técnicas Diagnósticas., MAG – FOR., revisado en Julio de 1997.
  
16. WENSVOORT G., C. TERPSTRA, J. M. A. POOL. E. A. ter LAAK. M. BLOEMRAAD, E. P. De KLUYVER, C. KRAGTEN, L. van BIUTEN, A. den BESTEN, et.al. (1991). Mystery swine disease in the Netherlands: the Isolation of Lelystad virus. *Vet Q* **13:121-130**.
  
17. ZIMMERMAN, J., K. YOON, G. STEVENSON, S. A. DEE. (1998). **The 1998 SRRP Compendium. National Pork Producers Council. U.S.A.**

# XIII. ANEXOS

Resultados:

Luego de de la aplicación de la técnica diagnóstica ELISA herdchek 2XR, en el laboratorio de Patología de Medicina Veterinaria, y su posterior lectura, subsiguientemente se aplicaron los cálculos para análisis de resultados, y se obtuvieron los siguientes:

Tabla. 1

1	-0.26	20	-0.30	39	-0.24	58	0.12		
2	0.01	21	0.00	40	-0.20	59	0.09	84	0.28
3	-0.05	22	-0.41	41	0.14	60	0.03	85	0.21
4	-0.01	23	-0.12	42	-0.10	61	0.28	87	-0.04
5	0.19	24	-0.20	43	-0.05	63	-0.01	88	-0.13
6	0.12	25	-0.12	44	-0.44	64	-0.24	89	0.06
7	-0.27	26	-1.80	45	0.29	65	-0.06	90	-0.10
8	0.03	27	-0.48	46	-0.03	66	0.02	91	0.33
9	0.14	28	-0.01	47	0.05	67	-0.04	92	0.02
10	-1.89	29	0.24	48	0.01	70	-0.03	93	-0.01
11	-1.76	30	-0.25	49	0.00	71	0.00	94	-0.08
12	0.01	31	-0.11	50	-0.10	72	-0.01	95	-0.01
13	-0.30	32	-0.45	51	0.08	73	-0.32	96	-0.02
14	-0.04	33	-0.03	52	0.06	74	-0.34	97	0.01
15	-1.30	34	-0.12	53	0.04	76	0.15	98	-0.10
16	-1.76	35	-0.01	54	0.32	77	-0.07	99	0.21
17	-1.70	36	-0.52	55	-0.21	81	-0.46	102	0.27
18	-0.23	37	-1.92	56	0.03	82	-0.04		
19	-0.24	38	0.14	57	0.09	83	0.15		

Montaje del ELISA



Montaje del ELISA



Lectura de la placa ELISA

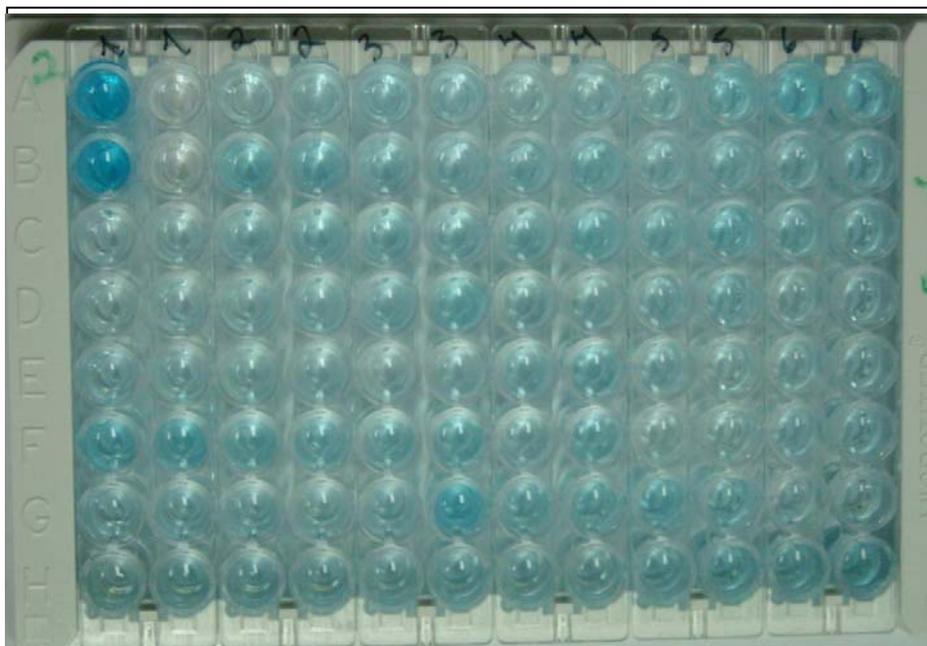


Tabla. 2

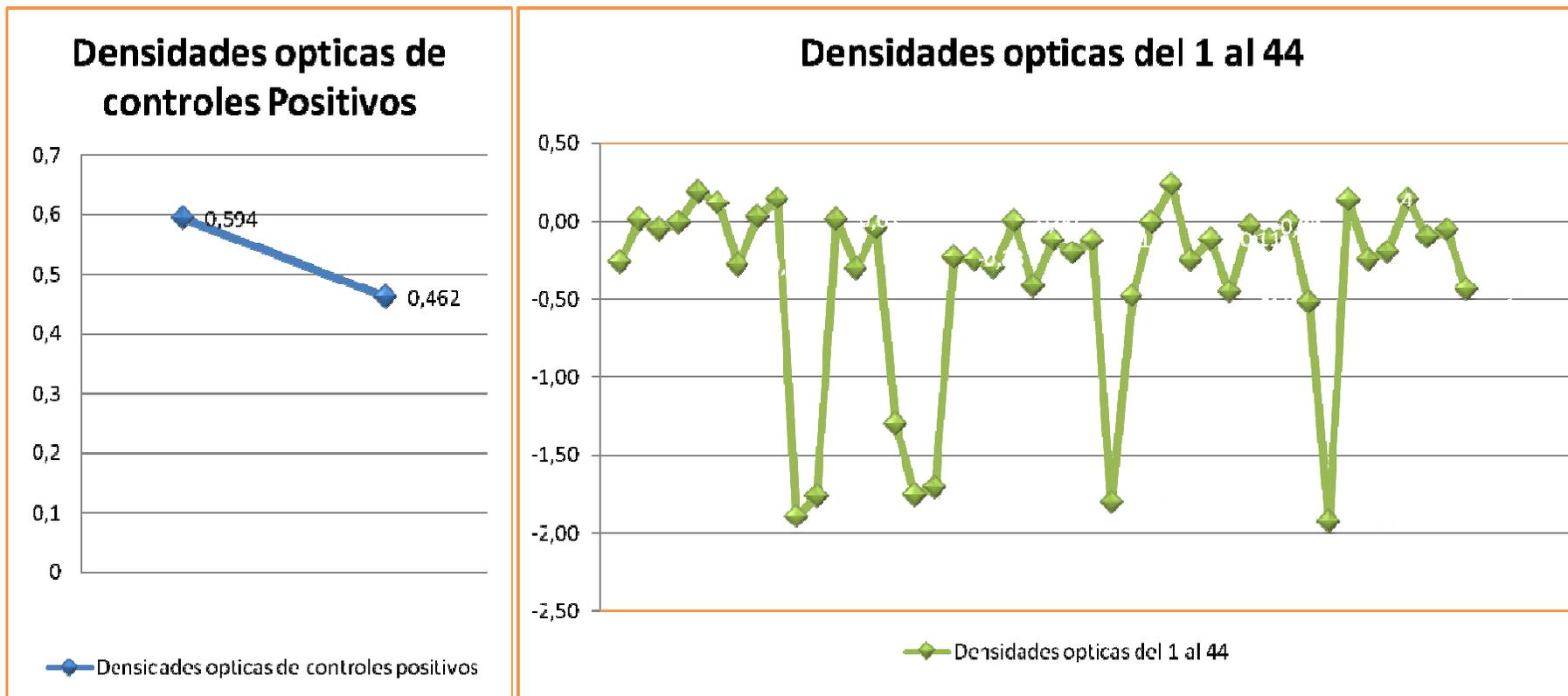


Tabla. 3

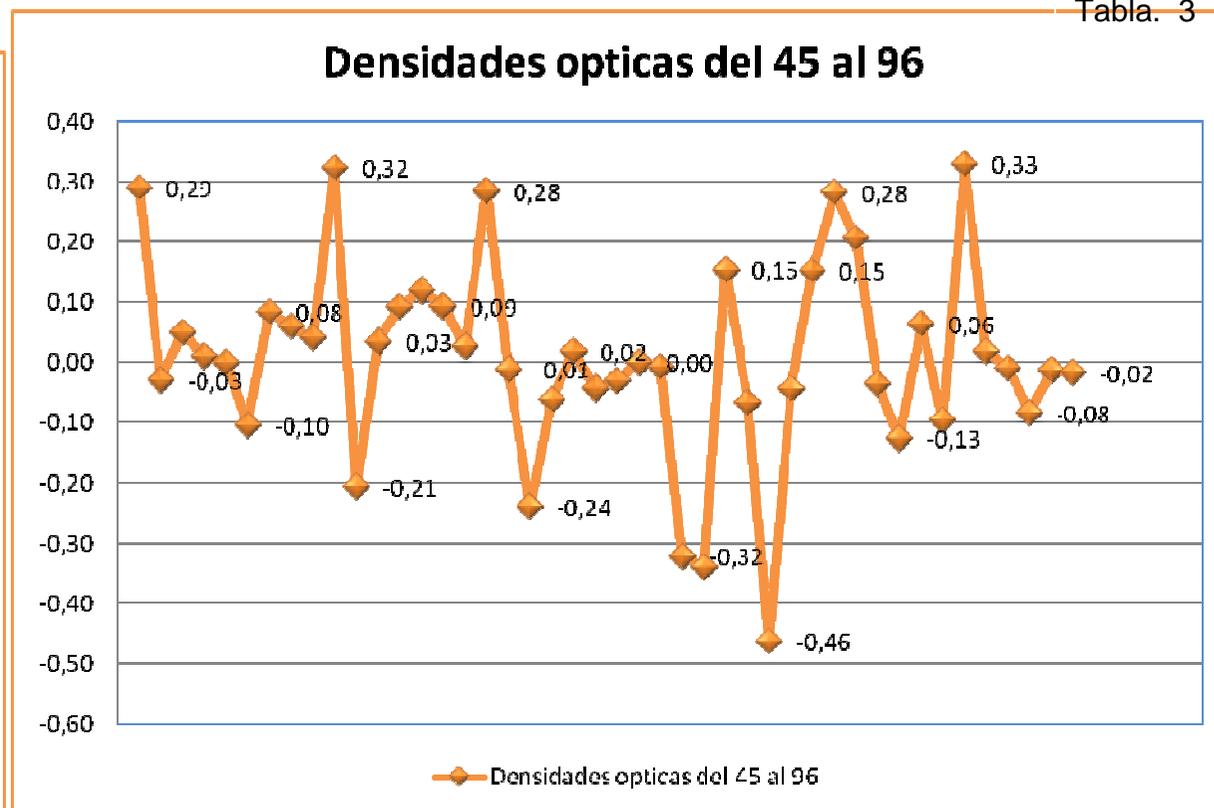
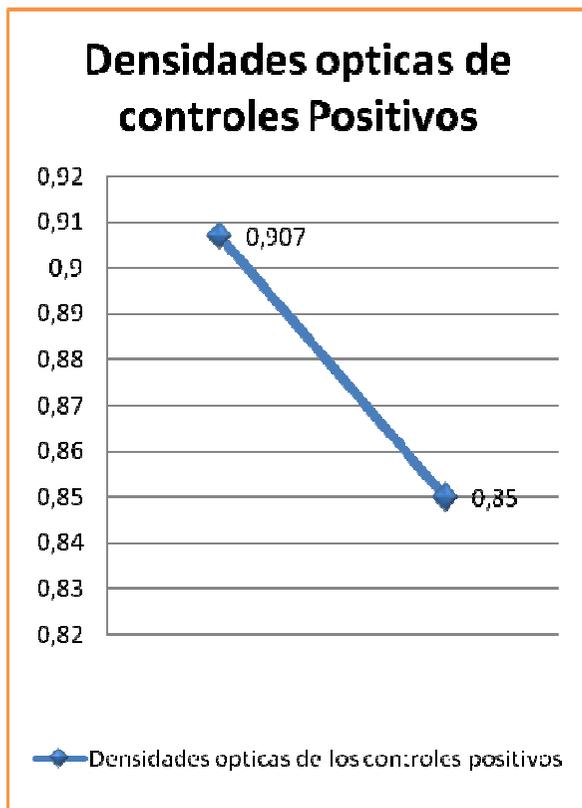
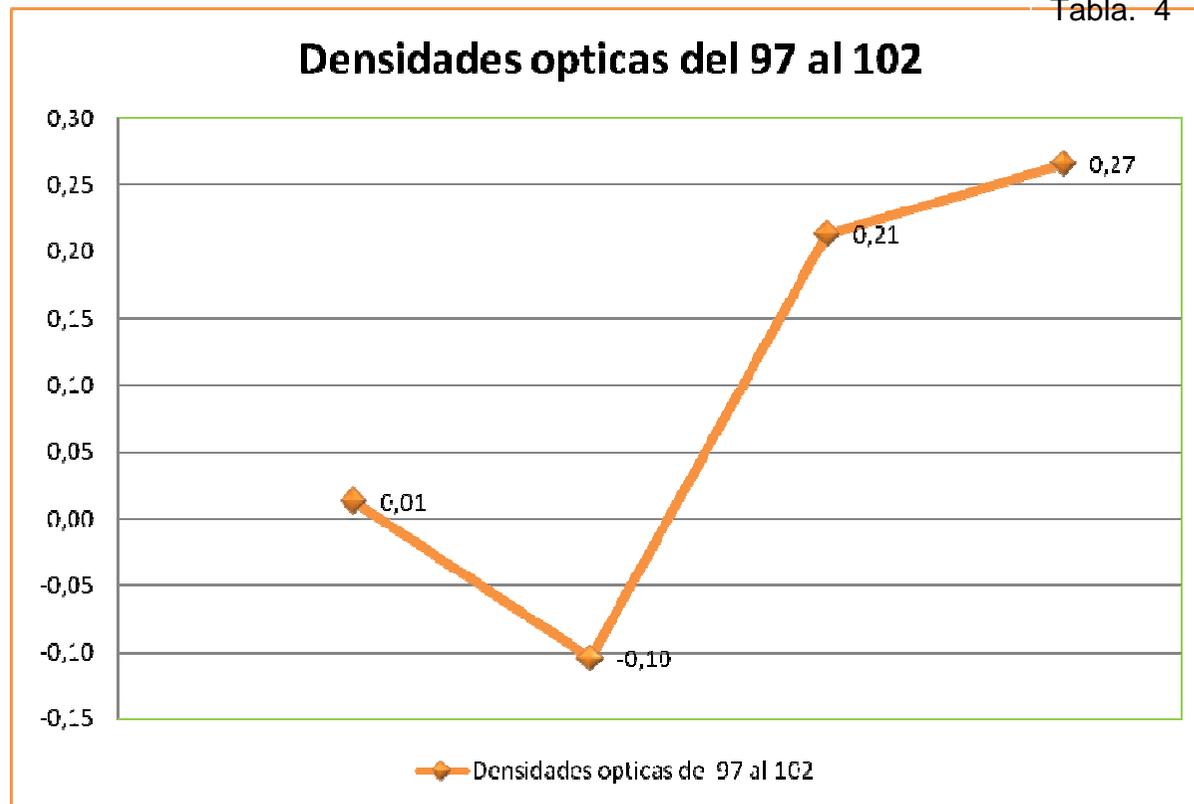
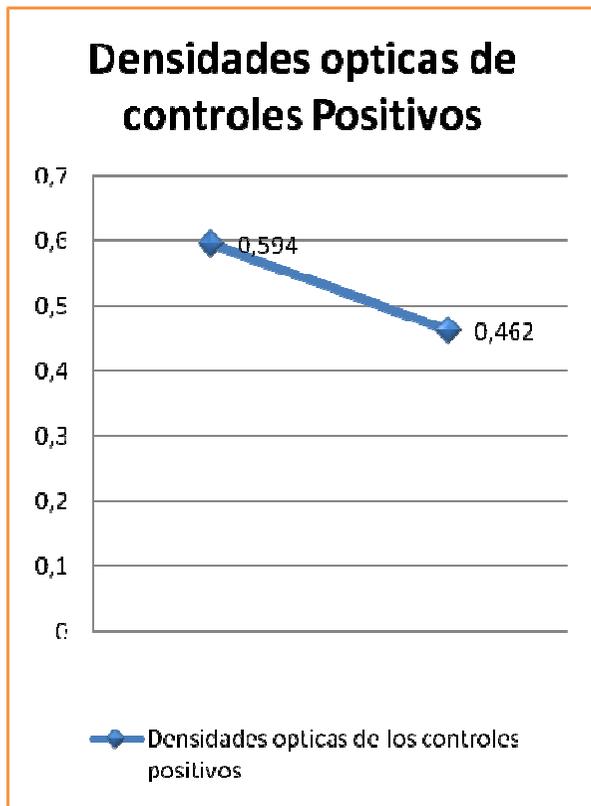
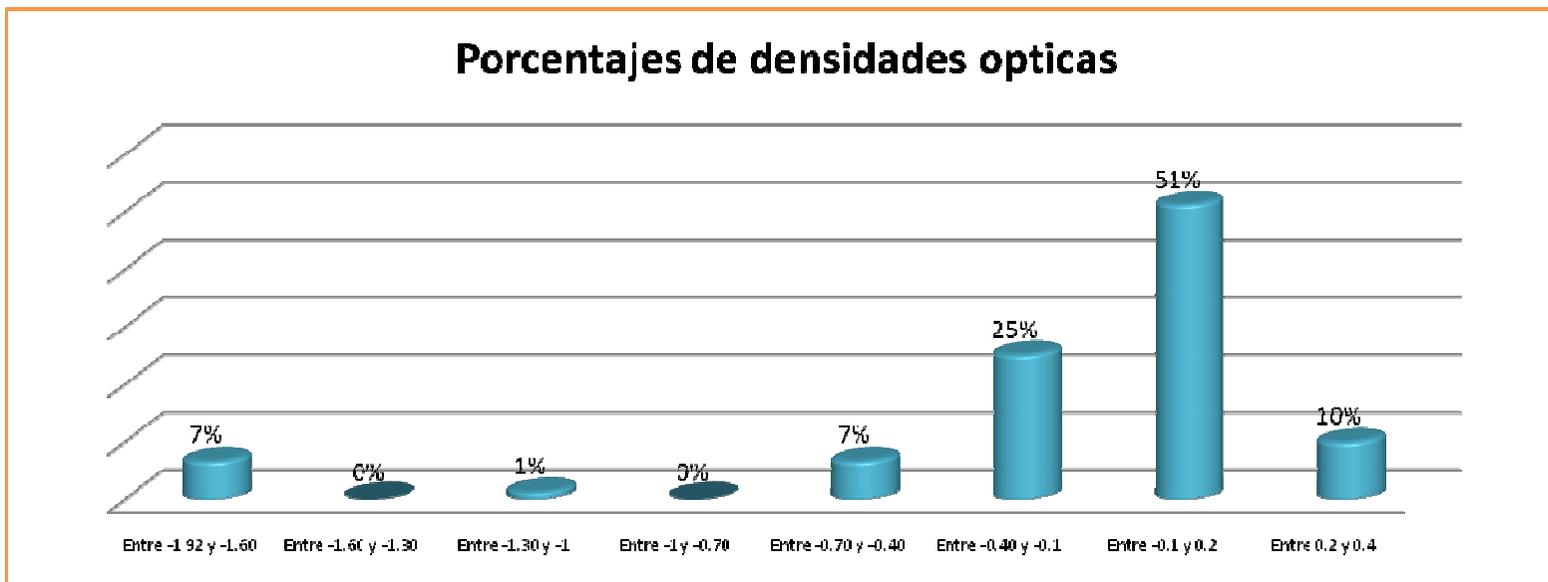
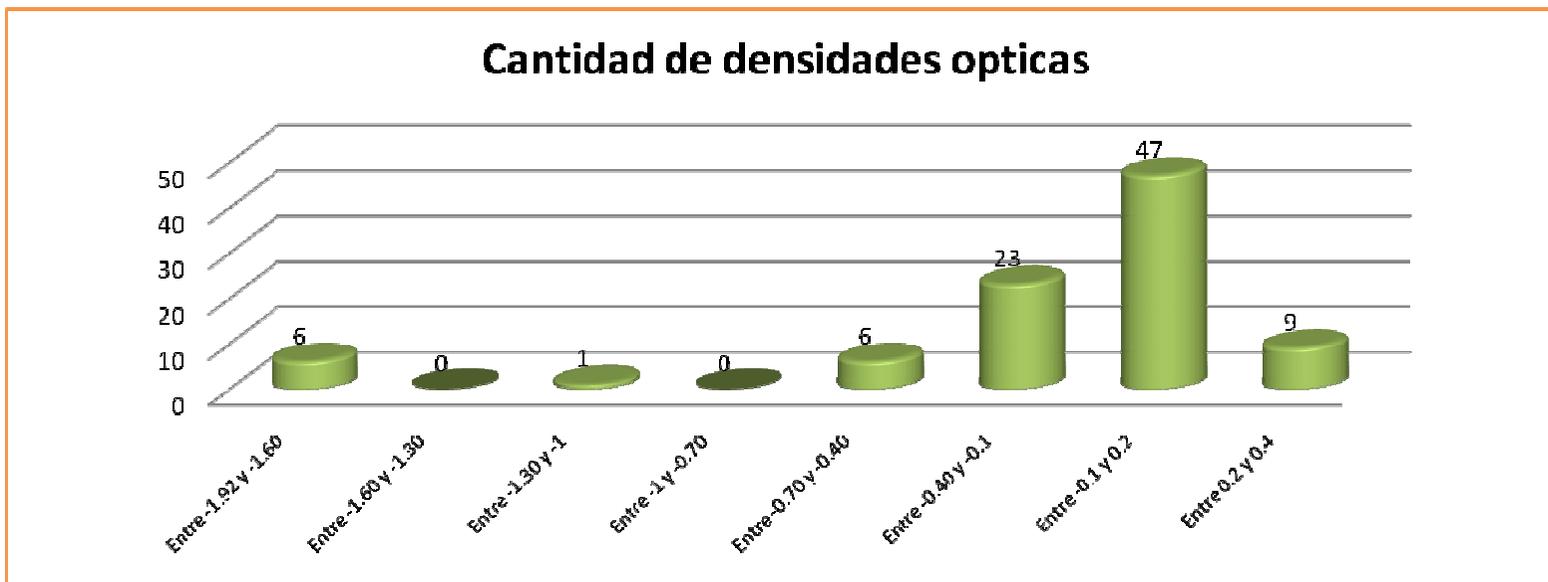


Tabla. 4







UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA  
 UNAN-LEON  
 ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

ENCUESTA DE PREVALENCIA DE SINDRÓME RESPIRATORIO REPRODUCTIVO PORCINO (SRRP) EN CERDOS DE PATIO EN LAS ZONAS URBANAS Y SUBURBANAS DEL MUNICIPIO DE LEON, FEBRERO DEL 2009

FICHA DE CASA N°: \_\_\_\_\_.

Sexo	NOMBRE	CODIGO

**DATOS GENERALES:**

Propietario: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_/02/2009 Hora: \_\_\_:\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_ Tel: \_\_\_\_\_

Zona de Toma de Muestras: \_\_\_\_\_.

**RESEÑA:**

Raza: \_\_\_\_\_ Nombre o ID: \_\_\_\_\_ Sexo: M;  H

Edad: \_\_\_\_\_ Peso aprox.: \_\_\_\_\_ Kg Actividad Productiva: \_\_\_\_\_

\*Si es Hembra:

N° de partos: \_\_\_\_\_ N° Promedio de Camada: \_\_\_\_\_ Ultimo Parto: \_\_\_\_\_

Habitantes en el Hogar \_\_\_ Niños \_\_\_ Niñas \_\_\_ Mujeres adultas \_\_\_ Hombres Adultos \_\_\_

**MANEJO:**

Alimentación: Granos cocidos  Desperdicios  Concentrado  Visceras y Despojos

Tipo de Comederos: Concreto  Llantas  Suelo  Otros: \_\_\_\_\_

Tipo de Crianza: Amarrado en el Patio  Suelto en el Patio  Chiquero  Vida Libre

Animales presentes: Perros  Gatos  Caballos  Bovinos  Otros: \_\_\_\_\_

¿Quién realiza el Manejo de los cerdos?: \_\_\_\_\_

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

Calle  Aguas Negras  Sumidero  Patio  Cauce  Río

**SANIDAD:**

Vacunaciones: Si  No  Cuando: \_\_\_\_\_ Cuáles: \_\_\_\_\_

Desparasitaciones: Si  No  Cuando: \_\_\_\_\_ Producto: \_\_\_\_\_

Vitaminación: Si  No  Cuando: \_\_\_\_\_ Producto: \_\_\_\_\_

• Enfermedades:

HEMBRAS: Abortos  Retenciones Placentarias  Artritis  Infertilidad

Otros: \_\_\_\_\_

MACHOS: Orquitis  Artritis  Otros: \_\_\_\_\_

MUJERES: Abortos: Si  No  Seguimiento Si  No  Donde: \_\_\_\_\_

Artritis: Si  No  Seguimiento Si  No  Donde: \_\_\_\_\_

HOMBRES: Orquitis Si  No  Seguimiento Si  No  Donde: \_\_\_\_\_

Artritis: Si  No  Seguimiento Si  No  Donde: \_\_\_\_\_

**OBSERVACIONES:** \_\_\_\_\_

Gráficos de las encuestas:

