

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCION
Y DE LA SALUD ANIMAL

ERRADICACIÓN DEL VIRUS DEL SÍNDROME RESPIRATORIO Y REPRODUCTIVO
PORCINO (PRRS) POR MEDIO DE UN SISTEMA DE CIERRE DE GRANJA Y
DESPOBLACIÓN DE LA LÍNEA DE PRODUCCIÓN EN UNA GRANJA
MULTIPLICADORA DE CICLO COMPLETO.

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

ANGEL PEDRO VILLANUEVA DOMÍNGUEZ

TUTOR:

MSc. JOSÉ MIGUEL DOPORTO DÍAZ

COMITÉ TUTORAL

Dra. MARÍA ELENA TRUJILLO ORTEGA

M.V.Z., M.A., EDUARDO PABLO CORREA GIRÓN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DECLARACIÓN.

En mi carácter de autor, doy consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, para que la tesis esté disponible, para cualquier tipo de reproducción e intercambio bibliotecario.

MVZ. EPA. Angel Pedro Villanueva Domínguez.

DEDICATORIAS.

A mis papás Catalina y Pedro, por el apoyo que siempre me han dado, y que sé, lo seguirán haciendo donde estén.

En especial a Alma, Angel e Inesita que me inspiran y me motivan a seguir superándome.

AGRADECIMIENTOS.

A mi asesor MSc José Miguel Doporto Díaz, por permitirme crecer profesionalmente.

A mi comité tutorial: Dra. Maria Elena Trujillo Ortega y M.V.Z., M.A. Eduardo Pablo Correa Girón.

A mi jurado: Dra. Susana Mendoza Elvira y Dr. Roberto Martínez Gamba.

Al M.V.Z. Alfredo García Rendón y López, por la oportunidad y la confianza brindada durante la realización de este posgrado.

Al departamento de producción animal: Cerdos, en forma especial a las M.V.Z. Roxana Mendoza y Rosalba Carreón, por su apoyo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por proporcionarme el apoyo económico para la realización de este posgrado.

RESUMEN.

El virus del PRRS es el causante de una de las enfermedades económicamente más importantes de los cerdos, por lo que el desarrollo de técnicas encaminadas a su control y erradicación son preponderantes. El objetivo de este trabajo fue eliminar el virus del PRRS, en una granja de ciclo completo, por medio del cierre de granja y despoblación de la línea de producción. Se suspendió la entrada de hembras de reemplazo al área de gestación por 6 meses y se interrumpió el flujo de animales a las áreas de destete y engorda, estableciéndose un monitoreo serológico constante, con la ayuda de perfiles serológicos transversales. Se analizó la información productiva y serológica; observándose mejora en los parámetros productivos de fertilidad, ganancia de peso y mortalidad en la línea de producción ($P < 0.05$), no así en el de lechones destetados ($P > 0.05$) promedio por parto, también se observó una tendencia altamente significativa ($P < 0.01$) hacia la negatividad serológica en las hembras del hato reproductor y en los animales de la línea de producción. Se concluyó que el cierre de granja a la entrada de hembras de reemplazo con despoblación de la línea de producción fue una estrategia efectiva para la eliminación del virus del PRRS en el pie de cría y en los animales del área de destete y engorda.

SUMMARY.

The PRRS virus is responsible for one of the most economically important disease of pigs, and the development of techniques to control and eradication are predominant. The objective of this work was to remove the PRRS virus at a farm complete cycle through the closure of farm and depopulation of the production line. It suspended the entry of female replacement to the area of pregnancy for 6 months and interrupted the flow of animals to areas and weaning weight, with a serological constant monitoring, with the help of profiles serological cross. From the analysis productive and serological observed improvement in the performance parameters of fertility, mortality and weight gain in the production line ($P < 0.05$) but not in that of weaned piglets ($P > 0.05$) average for childbirth, also there was a tendency highly significant ($P < 0.01$) serological negativity towards females in the herd player and animals of the production line. It was concluded that the closure of the farm input females replacement with depopulation of the production line was an effective strategy for the elimination of PRRS virus in the foot and breeding animals in the area and weaning weight.

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| Resumen | v |
| Índice de cuadros | ix |
| Índice de graficas | x |
| 1.0 Introducción | 1 |
| 1.1 Antecedentes | 1 |
| 1.2 Etiología | 2 |
| 1.3 Aspectos epidemiológicos | 3 |
| 1.4 Manifestaciones clínicas | 7 |
| 1.5 Patogenia | 10 |
| 1.6 Lesiones | 11 |
| 1.7 Aspectos inmunológicos | 12 |
| 1.8 Diagnóstico | 15 |
| 1.9 Control y erradicación | 20 |
| 2.0 Justificación | 29 |
| 3.0 Hipótesis | 29 |
| 4.0 Objetivos | 29 |
| 4.1 Objetivo general | 29 |
| 4.2 Objetivos particulares | 29 |
| 5.0 Material y método | 31 |
| 5.1 Características generales de la granja | 31 |
| 5.1.1 Antecedentes de la granja | 32 |
| 5.2 Método | 38 |
| 5.2.1 Cierre de la granja | 40 |
| 5.2.2 Despoblación de la línea de producción | 40 |
| 5.2.3 Introducción de animales libres de la enfermedad | 41 |
| 6.0 Análisis estadístico | 41 |
| 7.0 Resultados. | 42 |
| 7.1 Cierre de granja | 42 |
| 7.2 Despoblación de la línea de producción | 45 |

| | |
|--|----|
| 7.3 Introducción de animales libres de la enfermedad | 47 |
| 8.0 Discusión | |
| 8.1 Cierre de granja | 49 |
| 8.2 Despoblación de línea de producción | 51 |
| 8.3 Introducción de animales libres de la enfermedad | 52 |
| 9.0 Conclusión | 54 |
| 9.0 Referencias | 55 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | | |
|-----------|--|----|
| CUADRO 1. | Programa de acondicionamiento de las hembras de reemplazo para su introducción a la granja | 33 |
| CUADRO 2. | Cronograma del muestreo serológico | 39 |
| CUADRO 3. | Porcentaje de fertilidad observado durante el programa de erradicación. | 42 |
| CUADRO 4. | Serología realizada a las hembras del pío de cría durante el programa de erradicación. | 44 |
| CUADRO 5. | Porcentaje de mortalidad en la línea de producción observada durante el programa de erradicación. | 45 |
| CUADRO 6. | Ganancia diaria de peso en los animales de la línea de producción observada durante el programa de erradicación. | 46 |
| CUADRO 7. | Serología realizada a los animales de la línea de producción durante el programa de erradicación. | 47 |

ÍNDICE DE GRAFICAS

| | | |
|------------|--|----|
| GRÁFICA 1 | Porcentaje de fertilidad por cuatrimestre de los 2 años Previos al inicio del programa de erradicación | 34 |
| GRÁFICA 2 | Promedio de lechones destetados por parto por hembra De los 2 años previos al inicio del programa | 34 |
| GRÁFICA 3 | Perfiles serológicos transversales de anticuerpos contra PRRS en el pío de cría de los años 1999 y 2000 | 35 |
| GRÁFICA 4 | Comportamiento serológico de las hembras de reemplazo en el área de cuarentena | 36 |
| GRÁFICA 5 | Porcentaje de mortalidad por cuatrimestre en el destete y en la engorda | 36 |
| GRÁFICA 6 | Perfiles transversales de anticuerpos contra PRRS en la línea de producción | 37 |
| GRÁFICA 7 | Flujo de animales en la granja | 38 |
| GRÁFICA 8 | Diagrama de flujo (metodología) | 39 |
| GRÁFICA 9 | Efecto del programa de erradicación sobre el número de lechones destetados promedio por hembra | 43 |
| GRÁFICA 10 | Comportamiento serológico de las hembras del pío de cría de los últimos 3 perfiles | 44 |
| GRÁFICA 11 | Porcentaje de mortalidad después de la repoblación en la línea de producción | 46 |
| GRÁFICA 12 | Serología de las hembras que entraron libres de la enfermedad | 48 |
| GRÁFICA 13 | Comportamiento serológico de la línea de producción después de la repoblación | 48 |

1.0 INTRODUCCIÓN.

Los diferentes eventos que se han dado en el entorno de la porcicultura en los últimos tiempos, han cambiado de forma dramática la industria local de los países, tal como es el caso de México. Los porcicultores mexicanos se están enfrentando a las grandes empresas transnacionales y a su integración vertical, la cual permite a estas empresas obtener todos los beneficios del procesado del cerdo, mediante esto pueden vender el cerdo en pie más barato y así eliminar a la competencia. Lo anterior ha ubicado a los productores en la disyuntiva de hacerse eficientes o abandonar el negocio (Stephano, 2000).

Una empresa porcina produce de manera eficiente, cuando alcanza el volumen establecido de manera rentable. Para lograr lo anterior es necesario tener en cuenta, entre otros, los siguientes elementos: genética, alimentación, salud, manejo, instalaciones, ambiente y administración (Doporto, 1999).

Desde hace mucho tiempo se ha considerado que las enfermedades son una limitante para la producción eficiente de cerdos y la causa de pérdidas económicas para los productores. Las enfermedades pueden afectar a los animales de varias maneras: disminuyendo la velocidad del crecimiento, aumentando la conversión de alimento y causando pérdidas por gastos médicos y por muertes (Batista y Pijoan, 2002).

1.1 Antecedentes.

A mediados de los años ochentas fueron reportados en los Estados Unidos de América (E.U.A.) brotes de una enfermedad no identificada, a la cual se le llamó inicialmente enfermedad misteriosa del cerdo (Zimmerman *et al.*, 1997). En Europa se registró su presencia primeramente en Alemania en 1990 y se difundió rápidamente a Holanda e Inglaterra en 1991 (Done, 1995). A esta enfermedad la Oficina Internacional de Epizootias (O.I.E.), en 1992 le denominó oficialmente Síndrome Respiratorio y Reproductivo del Cerdo (PRRS) (Zimmerman *et al.*, 1997); ésta enfermedad es

considerada quizás, como el problema de salud y producción económicamente más significativo de la industria porcina en los últimos años (Dee y Joo, 1997). Se caracteriza por afectar a los sistemas respiratorio, reproductivo e inmunológico de los cerdos, y por poseer una alta capacidad de diseminación dentro de los hatos porcinos (Done, 1995; Meredith, 1995). Esta enfermedad actualmente se encuentra difundida en todo el mundo, siendo un problema enzoótico en los principales centros de producción porcina (Done, 1995).

En México la enfermedad se encuentra ampliamente difundida, en 1998 una investigación que incluyó 181 granjas de diferentes regiones del país, reportó una frecuencia de 84% de granjas positivas al virus (Diosdado *et al.*, 1998).

El virus de la enfermedad del PRRS es considerado como un parte aguas en la porcicultura moderna debido a las grandes pérdidas económicas que causa. La enfermedad se caracteriza por dos cuadros clínicos (Dee, 2000a; Stephano, 2000):

1.- Trastornos reproductivos, tales como: abortos tardíos, partos prematuros, incremento de retornos al estro, incremento en lechones nacidos muertos, momias y nacidos débiles, así como incremento en la mortalidad predestete.

2.- Manifestaciones respiratorias, entre las cuales se pueden observar disnea, taquipnea, estornudos, conjuntivitis y edema palpebral; con aumento de la mortalidad y de animales de desecho en cerdos destetados y en crecimiento, disminución de la ganancia diaria de peso y aumento de la conversión de alimento. Por otra parte aumentan los costos por medicación, por vacunación y por pruebas diagnósticas.

1.2 Etiología.

El agente causal del PRRS es un virus ARN de cadena sencilla de polaridad positiva, que presenta un pleomorfismo acusado aunque predominan los viriones esféricos con un tamaño medio de 62 nm. En su interior, los viriones muestran un centro electrodensito de 25-35 nm de diámetro, rodeado de una envoltura membranosa; presenta una

envoltura lipídica. (Correa *et al.*, 1995; Suárez, 2000). Con respecto a su clasificación taxonómica, en la actualidad el virus ha sido incluido en el género *Arterivirus* de la familia Arteriviridae, en la cual también se incluyen los virus lactato deshidrogenasa del ratón (LDH), arteritis vírica equina (AEV) y el virus de la fiebre hemorrágica del simio (SHFV). No hemaglutina al utilizar eritrocitos de 11 especies animales. Tiene aproximadamente 15 kb de tamaño y consiste de 8 “ORFs” (marcos de lectura abierta) que codifican las proteínas virales específicas. Los “ORFs” 1a y 1b comprenden aproximadamente el 80% del genoma viral y codifican el ARN dependiente, la ARN polimerasa, la ARN replicasa y proteínas no estructurales; los “ORFs” del 2 al 7 codifican proteínas estructurales asociadas con el virión, las cuales son las siguientes: proteína N de la nucleocapside (ORF7), la proteína integral de membrana M (ORF6); y las glicoproteínas GP2 (ORF2), GP3 (ORF3), GP4 (ORF4) Y GP5 (ORF5) (Meulemberg, 1998; Meulemberg, 2000; Yoon, 2000).

El virus del PRRS (vPRRS) es sensible al cloroformo, a los solventes de lípidos y detergentes. La estabilidad del virus disminuye a un pH inferior a 5 ó superior a 7, es estable a temperaturas bajas y sensible a temperaturas altas: a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ sobrevive varios meses ó años, mientras que a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ lo hace por 1 mes; por otro lado la inactivación completa ocurre dentro de 48 horas a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ y en 45 minutos a $56\text{ }^{\circ}\text{C}$. La humedad medioambiental es crucial para mantener la viabilidad del virus; en condiciones secas la inactivación del virus ocurre rápidamente, pero en condiciones húmedas el virus sobrevive hasta 11 días. El virus en general se considera frágil a temperaturas ambientales altas, pero puede persistir en el medio por periodos prolongados en ambientes frescos y húmedos (Correa *et al.*, 1995; Yoon, 2000). Este virus se puede cultivar en tres tipos de líneas celulares: macrófagos alveolares porcinos (MAP), la línea celular procedente de riñón de mono denominada CL-2621 y el clon MARC-145 de la línea celular procedente de riñón de mono MA-104 (Suárez, 2000).

1.3 Aspectos epidemiológicos.

En los últimos años, se han dedicado muchos recursos hacia el control y prevención del PRRS y, desgraciadamente, en algunos aspectos la industria porcina no está mejor que

cuando se describió por primera vez esta enfermedad. Uno de los principales retos para la comunidad veterinaria es entender totalmente la transmisión de este virus. De hecho, cada año se describen casos clínicos en granjas libres de la enfermedad, a pesar de haber desarrollado muchas medidas de bioseguridad (Lager y Mengeling, 2000).

El virus es altamente infeccioso, de hecho se ha logrado infectar animales inoculándolos con 10 viriones por vía intranasal o intramuscular. Sin embargo, se requieren de 1, 000 a 100, 000 partículas víricas para conseguir la infección a través de cualquier mucosa (ocular, vaginal u oral) dependiendo de su localización anatómica específica. En general, el virus es lábil ya que es inactivado rápidamente en el ambiente; sin embargo, puede permanecer viable fuera de un animal si se le dan las condiciones adecuadas de temperatura, pH y humedad. Desde un punto de vista práctico, los procedimientos estándar de limpieza y desinfección son efectivos para inactivar el virus en las instalaciones y en el equipo propio de la explotación (Suárez, 2000).

Aunque el virus es altamente infeccioso, no es muy contagioso. Algunas investigaciones, proponen que la principal forma de transmisión es por contacto directo y que esta se favorece por constantes movimientos de animales (Albina, 1997). Se ha demostrado la transmisión directa por contacto entre animales; señalando que el vPRRS puede replicarse en células germinales del testículo por lo tanto la transmisión sexual es posible, aun si se utiliza semen fresco diluido (Yoon, 2000). El virus también tiene la capacidad de transmitirse a través de la placenta, con el consiguiente nacimiento de lechones infectados. Las heces y la orina deben considerarse como potenciales fuentes de contaminación ya que por estas vías también se disemina el virus (Albina, 1997; Yoon, 2000). Se han realizado diversos trabajos para determinar el tiempo de excreción viral en los animales infectados experimentalmente, encontrándose hasta 251 días; estos datos explican porqué en algunas ocasiones, el virus se ha transmitido de animales infectados a animales susceptibles, después de que hubieran transcurrido varios meses desde la infección inicial en los primeros, sugiriendo que algunos cerdos se pueden comportar como diseminadores crónicos del virus (Wills *et*

al., 2003). Este hecho epidemiológico es clave para entender porqué la propagación de este virus es difícil de detener, cuando se combina la presencia de estos animales portadores con prácticas habituales de la industria porcina. Como son la concentración de muchos animales de orígenes diversos, la movilidad geográfica de lechones jóvenes y el uso cada vez más extendido de macrocentros para la inseminación artificial. Se desconoce porqué sólo algunos animales son portadores crónicos tras la infección inicial mientras que, en la inmensa mayoría, la infección se elimina después de algunas semanas o meses (Wills *et al.*, 2003).

La transmisión indirecta, es decir, aquella que no implica un contacto directo entre animales es posible que ocurra en la práctica, pero ha sido muy difícil de demostrar en condiciones experimentales. Así, hay trabajos de campo en los que se demuestra que la transmisión por aerosol puede ser una vía muy importante (Lager y Butler, 2002), inclusive a una distancia hasta de 20 km (Zimmerman *et al.*, 1997). Esta forma de transmisión se ve favorecida durante el invierno, cuando las temperaturas son bajas, la humedad es alta, el viento es rápido y la exposición a la luz ultravioleta es menor (Albina, 1997).

Se han publicado trabajos de investigación en los que se demuestra que las agujas que se usan para administración parenteral en varios animales son una probable vía de diseminación del virus dentro de una explotación, también parece que algunas especies de mosquitos y de aves podrían actuar como vectores biológicos en la transmisión de este virus (Wills *et al.*, 2000).

Transmisión dentro de una granja: Una vez que un sistema de producción se infecta, el virus tiende a recircular de forma indefinida. Hasta la fecha, los mecanismos probables que hacen que la infección pase a ser endémica no se conocen con precisión, pero parece claro que la infección persistente en animales clínicamente sanos y la llegada continua de animales susceptibles a la explotación (ya sea porque han nacido en ella o porque se han comprado) son elementos claves en este proceso (Blaha, 2000).

El virus se perpetúa mediante un ciclo de transmisión de las madres a su descendencia, ya sea por paso a través del útero o tras el parto y por la mezcla de animales negativos con animales infectados en fases posteriores de la producción. En los cerdos neonatos, los anticuerpos maternos pueden proporcionar algo de resistencia inmunológica a la infección, pero esta protección no es absoluta y es de corta duración (Blaha, 2000).

Bajo condiciones en las que los animales susceptibles y los infectados se mezclan (por ejemplo, al destete), una proporción muy importante se podría contagiar. Así, algunos autores han demostrado que, en algunas explotaciones, el 80-100% de los animales están infectados a las 8-9 semanas de edad y que el 96% de los cerdos comercializados de explotaciones infectadas son positivos (Dee y Joo, 1994). Sin embargo, el patrón de contagio en granjas endémicas con frecuencia puede ser mucho más lento que el descrito previamente (se han encontrado infecciones iniciales a las 12-13 semanas de edad). Por último, también se han observado diferencias en este patrón entre lotes e incluso entre corrales, dentro de una misma explotación. También se ha descrito que animales alojados en explotaciones endémicas pueden permanecer libres de la infección durante largos períodos (Wills *et al.*, 2003).

Es fundamental conocer la situación epidemiológica del pío de cría en las granjas para entender la evolución del vPRRS en la línea de producción. Hoy en día el área reproductiva se puede clasificar respecto a su *status* frente al vPRRS del siguiente modo (Dee, 2000a):

Granja negativa. Es una granja no infectada.

Granja estable-no activa. El término "estable" se refiere al pío de cría, mientras que el hecho de que sea "no activa" hace referencia a la población de cerdos en la línea de producción. Una granja estable y no activa es aquella que una vez estuvo infectada pero que ha recuperado su productividad, hasta niveles similares al periodo previo a la infección. Es decir, la granja está infectada, y se pueden detectar anticuerpos en los

animales, pero no hay evidencia de transmisión activa del virus dentro de ella y su funcionamiento es bueno.

Granja estable-activa. De características similares a la anterior, se refiere a un hato reproductor infectado pero recuperado. Sin embargo, en la clase "activa" tienen cabida infecciones o seroconversiones en la línea de producción. Los lechones están sanos al destete pero transcurrido el tiempo es posible observar una signología clínica compatible con el PRRS. En estos casos, el pío de cría se ha recuperado, pero en la línea de producción el virus aún se encuentra activo.

Granja inestable. Se trata de una explotación que o bien está infectada activamente o de forma crónica. Es la típica granja que presenta problemas en todas las etapas (problemas relacionados con el PRRS en las reproductoras y después del destete). Puede considerarse, en definitiva, como una explotación "fuera de control".

De manera general se podría decir que el PRRS posee las características de las enfermedades endémicas, epidémicas o de ambas, dependiendo del sistema fisiológico de expresión (tracto respiratorio o reproductivo), por lo que la infección con el vPRRS muestra un modelo epidemiológico diferente: la enfermedad reproductiva tiene más características de una epidemia, desarrollando una buena inmunidad protectora, ya que los hatos que presentan un brote de la forma reproductiva retornan al comportamiento normal en algunos meses; mientras que la enfermedad respiratoria tiene más características de una enfermedad endémica, con una débil respuesta inmune y una mayor variación en la severidad de los signos clínicos (Blaha, 2000).

1.4 Manifestaciones clínicas.

Uno de los rasgos más característicos de un brote infeccioso producido por el vPRRS, es la gran variabilidad de efectos clínicos que se pueden observar y la descripción cada vez más frecuente de infecciones subclínicas. De hecho, en la expresión clínica de esta enfermedad tienen mucha importancia factores como los sistemas y densidad de alojamiento, la calidad del aire, el *status* sanitario general de los animales, la cantidad y

la cepa del virus presente (Goldberg *et al.*, 2000; Reeth *et al.*, 2001). Además, es prácticamente imposible medir los efectos causados por la infección del vPRRS por sí solo ya que, normalmente, se complica con infecciones secundarias, siendo estas últimas las que determinan frecuentemente la presentación de la enfermedad (Done, 1995).

La infección clínica en una piara es primeramente la consecuencia de la viremia aguda en los animales, y la transmisión transplacentaria del virus de las madres a su descendencia, principalmente en el último tercio de gestación. En la infección clínica sobre piaras susceptibles todas las edades son afectadas, y los signos más importantes son fiebre, inapetencia y disnea. En los siguientes 1 a 4 meses algunas cerdas manifestarán partos prematuros, usualmente después de los 100 días de gestación. Algunas parirán después de una gestación prolongada de 115 – 118 días. Las camadas afectadas de las hembras infectadas señaladas anteriormente presentarán algunas o las siguientes características: nacidos muertos, fetos momificados, momias a término, nacidos débiles de diferente tamaño, y nacidos aparentemente normales de diferente tamaño; además, la mortalidad predestete es alta (Collins, 1998; Prieto y Castro, 2000).

Con menor frecuencia puede haber falla reproductiva esporádica en subpoblaciones de cerdas de reemplazo susceptibles. También se ha observado frecuentemente pseudogestación o hembras que involucionan la gestación cerca de la fecha de parto (Bierk, 2000 y 2001).

La infección fetal es usualmente detectada sólo en un pequeño porcentaje de las camadas abortadas, y la mayoría de éstas son camadas abortadas en las últimas 1 a 2 semanas de gestación. El mecanismo de aborto podría envolver la disfunción ovárica (Lager y Mengeling, 2000).

La signología clínica que se puede observar en los cerdos de destete y engorda incluye signos sistémicos, que son los primeros en aparecer, pueden incluir la muerte de los animales afectados (cursando como muertes súbitas que son muy difíciles de asociar a una infección por PRRS en una necropsia estándar), especialmente en la fase aguda de la infección, pero suelen predominar la anorexia, la pirexia, la letargia y, en ocasiones, la cianosis en la piel. La falta de apetito se suele presentar en realidad más bien como una inapetencia transitoria que aparece a lo largo de varios días en distintos animales. La pirexia (que rara vez supera los 40 °C) suele afectar sólo al 30% de los animales. Por último, la cianosis sólo se suele observar en el 5% de los animales afectados. Los signos respiratorios, que incluyen la presencia de disnea y taquipnea, pueden ser observados o no en la fase aguda en los animales adultos, pero son los signos que predominan normalmente en los animales más jóvenes, apareciendo frecuentemente una respiración abdominal en los lechones que están en lactación y en los recién destetados. También se puede observar la aparición de estornudos, conjuntivitis y edema palpebral. La mortalidad durante el destete se puede incrementar desde un 1-2% antes del brote clínico, hasta un 10-15% postbrote. Sin embargo, la mortalidad que se ha descrito para cerdos adultos no suele superar el 5% (Albina, 1997; Collins, 1998).

Un componente muy importante en la enfermedad pre y postdestete es el desarrollo de infecciones secundarias. De hecho, se han descrito las siguientes infecciones virales asociadas al vPRRS: Influenza porcina y coronavirus respiratorio porcino (Reeth *et al.*, 2001). Así mismo, se ha demostrado la asociación con *Bordetella bronchiseptica* (Brockmeier *et al.*, 2000), *Haemophilus parasuis* (Solano *et al.*, 1997), *Streptococcus suis* (Galina *et al.*, 1994), *Salmonella choleraesuis* (Wills *et al.*, 2000), y *Mycoplasma hyopneumoniae* (Thacker *et al.*, 2000). En todos los casos de infección conjunta, la signología observable es la descrita anteriormente para el vPRRS, más la propia de cada agente infeccioso comentado anteriormente. Así a nivel de campo, se observarían casos de enfermedad de Glässer, meningitis estreptocócica, salmonelosis porcina o de micoplasmosis, que tendrían una presentación clínica mucho más grave que si no se

presentaran como una coinfección. También en los casos de infección conjunta disminuye la eficacia de los tratamientos habituales frente a los microorganismos que actúan junto al vPRRS (Bosch y Zhou, 2000; Brockmeir, 2000).

1.5 Patogenia.

La patogénesis del vPRRS se basa en la infección y replicación dentro de las células de la línea monocito/macrófago y, el pulmón es un sitio predominante de multiplicación viral (macrófagos alveolares). Otras células donde se puede multiplicar el virus son las células endoteliales y las células espermatozógenas (Lager y Mengeling, 2000; Sur *et al.*, 2000).

Los macrófagos que tienen relación con una superficie mucosa, son el sitio primario de replicación; posteriormente hay una distribución a tejido linfático regional para luego acceder, tras su distribución sistémica, a macrófagos y monocitos en múltiples tejidos del organismo. El virus podría entrar en la célula por una ruta endocítica que es pH dependiente y que está muy relacionada con un receptor para el virus a nivel de la membrana celular de determinadas células como los macrófagos (Suárez, 2000).

También se ha descrito que el virus podría entrar en las células fagocíticas a través de un mecanismo dependiente de anticuerpos. Este mecanismo se basa en la unión del complejo antígeno-anticuerpo a la membrana celular, donde hay un receptor para la fracción Fc del anticuerpo y, de este modo, facilitar su entrada dentro de las células diana. Los macrófagos alveolares pulmonares pertenecientes a animales menores de 6 semanas de edad son más susceptibles a la infección por el virus. Este hecho puede explicar porqué la enfermedad es más grave en los animales más jóvenes (Suárez, 2000).

El ciclo de replicación viral es rápido y la infección produce lisis celular y apoptosis en las células adyacentes inducida por el virus (Sur *et al.*, 1998). Las lesiones asociadas con la enfermedad respiratoria se caracterizan por una neumonía intersticial que puede ser muy grave. Cuando se comparó la infección por el vPRRS a nivel pulmonar, con

otros procesos víricos con afección respiratoria, sólo se pudieron detectar cantidades muy bajas del virus, y por esta razón se sospecha que la lesión pulmonar se atribuye a la liberación de citocinas proinflamatorias de macrófagos infectados por el virus. Esta carencia de virus es también cierta en la falla reproductiva asociada al PRRS. Así, hay unas cantidades muy bajas de virus, antígeno viral o ácido nucleico asociado con el tracto reproductivo de cerdas afectadas clínicamente y lo mismo es cierto para fetos abortados, nacidos débiles y mortinatos (incluso en el caso de que se haya podido detectar una viremia en estos) (Prieto *et al.*, 1997; Sur *et al.*, 2001). En el caso de los verracos adultos, el vPRRS es de nuevo difícil de identificar en los tejidos; sin embargo, se ha detectado donde tiene consecuencias dramáticas, es decir, el tejido espermatogénico de los testículos (Christopher-Hennings *et al.*, 1998; Sur *et al.*, 2000).

Cuando la infección es persistente, la replicación del virus se da estrictamente en el tejido linfoide, especialmente en linfonodos y tonsilas, o en sitios inmunoprivilegiados; por lo tanto en los animales con infección crónica, es difícil aislar el virus del tejido pulmonar o de los macrófagos alveolares (Bierk *et al.*, 2001).

1.6 Lesiones.

El vPRRS produce una infección multisistémica que conlleva una afección de muchos tejidos. Sin embargo, las lesiones macroscópicas se suelen observar sólo en unos pocos órganos (pulmón y tejido linfoide). Las lesiones tanto macro como microscópicas son mucho más evidentes en los animales más jóvenes aunque son similares en cerdos de engorda. Los estudios patogénicos han descrito lesiones pulmonares macroscópicas (neumonía intersticial) que empiezan 48 horas tras la infección, se agravan al cabo de 10 días y se empiezan a resolver 21-28 días post-infección. Las infecciones por el vPRRS, si no se complican, producen un engrosamiento de los tabiques interalveolares por infiltración de células mononucleares. También hay una acumulación de macrófagos necróticos y normales en los espacios alveolares. Inmediatamente después de la infección, se ha demostrado una disminución de la función de los macrófagos alveolares e intravasculares, que se cree juega un papel en el desarrollo de infecciones secundarias. Se ha descrito la presencia de una linfadenopatía generalizada,

observada con mayor frecuencia en los ganglios de las regiones torácica, cervical e inguinal (hipertrofia e hiperplasia folicular) que empieza 10-14 días post-infección y persiste, como mínimo, durante varias semanas (Segalés y Domingo, 1998). Las lesiones microscópicas se desarrollan como consecuencia de la infección de los macrófagos en otros tejidos; el tipo y grado de inflamación depende de la cepa vírica, edad de los animales, genética del cerdo, complicaciones con otros agentes bacterianos y víricos así como la presencia de factores estresantes. En general existen lesiones fetales que consisten en vasculitis generalizada en órganos mayores o sólo una arteritis necrotizante segmental del cordón umbilical; en la hembra hay endometritis y miometritis media, y menos frecuentemente placentitis (Lager y Mengeling, 2000; Prieto y Castro, 2000). Las lesiones pulmonares más frecuentes incluyen infiltración de los septos alveolares con una mezcla de células mononucleares, hipertrofia e hiperplasia de neumocitos tipo 2 y, marcada acumulación de exudado necrótico e inflamatorio. Así, también se ha observado encefalitis, rinitis, miocarditis y arteritis (Done *et al.*, 1998).

1.7 Aspectos inmunológicos.

Estudios experimentales que se han llevado a cabo para estudiar la respuesta inmune a este virus, han dejado claro que los cerdos desarrollan una respuesta homóloga (a la misma cepa del vPRRS) que es protectora y de larga duración. Los estudios de exposición homóloga parecen sencillos: los cerdos son inmunizados con una cepa determinada del vPRRS y, posteriormente, son expuestos a la misma cepa. En este caso no se observaron signos clínicos y el virus de campo no se replicó o lo hizo a unos niveles muy bajos en el hospedador (Lager *et al.*, 1997). La exposición a cepas heterólogas podría o no demostrar inmunidad protectora, es decir, algunos animales parecerán normales tras el contagio sin que se detecte replicación vírica en éstos, mientras que otros estarán clínicamente normales aunque se replique el virus en ellos y otros estarán clínicamente afectados (Lager *et al.*, 1999). Unos resultados u otros son impredecibles y se cree que es debido a la variación biológica en los animales y a las diferencias existentes entre la cepa inmunizante y la del virus de campo (Goldberg *et al.*, 2000; Meng, 2000).

No se conoce completamente la inmunología de esta infección vírica. No obstante, parece claro que se requiere de una respuesta eficaz tanto humoral como celular para que aparezca una protección completa. Por otro lado, la respuesta inmune a este virus se ha descrito como no convencional ya que, aunque los anticuerpos frente al virus aparecen muy rápido tras la infección (7-14 días), alcanzan un máximo a las 5-6 semanas y perduran durante toda la vida comercial de un cerdo de engorda. Se requieren de cuatro a seis semanas tras la infección, para que empiecen a aparecer anticuerpos neutralizantes, que alcanzan el título máximo a las 10 semanas postinfección. Curiosamente, esta respuesta serológica coincide en estos casos con la desaparición de una viremia que había sido excepcionalmente larga. También parece claro que la respuesta inmune celular específica frente al vPRRS, también tarda mucho en desarrollarse frente a la infección y va paralela a la aparición de anticuerpos neutralizantes (López *et al.*, 1999). Estudios experimentales han demostrado que al hacer un desafío con una cepa homóloga, en un animal inmune, éste no desarrolló una respuesta inmune humoral anamnésica. Esto se observa a nivel de campo, ya que las cerdas que son vacunadas reiteradamente pueden ser seronegativas. Sin embargo, se ha observado una respuesta inmune celular de memoria, sugiriendo que ésta podría ser más relevante a la hora de definir el concepto de inmunidad protectora (Blaha, 2000).

Se han observado diferencias antigénicas entre cepas víricas con anticuerpos monoclonales y, de este modo, se han podido identificar epítopes sobre varias proteínas estructurales del virus. Hasta la fecha no se ha podido demostrar que existan epítopes protectores, aunque hay anticuerpos monoclonales que reaccionan con las proteínas Gp4 y Gp5 que pueden neutralizar la infectividad en cultivos celulares (Rodríguez *et al.*, 2001); sin embargo, no se sabe si estos mismos podrían evitar que el virus infecte los macrófagos alveolares *in vivo* (Meng, 2000). Osorio (2002), ha demostrado que la transferencia de anticuerpos seroneutralizantes a cerdas que no habían sido expuestas al vPRRS podría protegerlas frente a la signología reproductiva que se desencadenaría tras su infección experimental. No se han llevado a cabo

estudios similares para evitar la signología respiratoria tras la infección, pero podrían ser de gran interés a nivel de campo.

Estudios *in vivo* han demostrado diferencias entre cepas víricas y parece claro que puede existir resistencia en animales que fueron inmunizados con una cepa y luego desafiados con la misma (exposición homóloga) (Lager *et al.*, 1997) y que, en cambio, no existe protección cuando son inmunizados con una y desafiados con otra (exposición heteróloga) (Lager *et al.*, 1999). No obstante, en la literatura se pueden encontrar estudios contradictorios al respecto (Lager y Mengeling, 2000).

Tras la infección con el vPRRS hay una mayor incidencia y gravedad de patologías secundarias. Este hecho se ha interpretado como una evidencia de que el vPRRS tiene propiedades inmunosupresoras (Drew, 2000). En condiciones experimentales, se ha intentado demostrar este efecto con infecciones duales del vPRRS y otros virus o bacterias. Los resultados han sido contradictorios, ya que algunos estudios han demostrado que el vPRRS puede afectar negativamente el sistema inmune, mientras que otros no lo han podido afirmar (Albina *et al.*, 1998; Lager y Mengeling, 2000). Muchos factores podrían explicar esta discrepancia: genética de los animales, la cepa del vPRRS utilizada en el desafío y su virulencia (Mengeling *et al.*, 1998), entre otros. A pesar de que los estudios experimentales no son determinantes, a nivel de campo se observan muchísimas complicaciones secundarias que van unidas a una infección por el vPRRS. Otros experimentos han demostrado que hay una disminución en la función y en el número de células efectoras dentro del pulmón. Así mismo, aunque hay una respuesta inmune celular (células T) contra las proteínas estructurales virales, se cuestiona si ésta es adecuada en duración e intensidad, sobre todo si se compara con otros procesos virales. Además, hay datos preliminares que sugieren que el vPRRS podría modular negativamente la respuesta inmune a través del "perfil" de citocinas presentes tras la infección. También se desconoce porqué el virus puede persistir en los pulmones, tejidos linfoides y en los testículos durante muchas semanas o meses, antes de que se elimine definitivamente del animal (Reeth, 1997).

1.8 Diagnóstico.

El diagnóstico clínico del vPRRS como agente causal de problemas patológicos en las granjas es difícil, ya que la signología que desencadena es compatible con la producida por otros agentes bacterianos o virales. Por lo tanto, es elemental que para el diagnóstico del PRRS se siga la metodología aplicada para la mayoría de las enfermedades infecciosas; comenzando con el establecimiento de un diagnóstico presuntivo, basado sobre los signos clínicos, las lesiones y el comportamiento epidemiológico en la granja; posteriormente dicho diagnóstico debe ser confirmado con pruebas de laboratorio que permitan la detección e identificación del virus infeccioso, la detección de anticuerpos específicos contra el virus, la detección e identificación del antígeno o la detección del ácido nucleico viral (Dopporto, 1999; Mengeling y Lager, 2000). Es decir, es necesario llevar a cabo un diagnóstico de laboratorio.

Las pruebas diagnósticas actuales para la detección del vPRRS pueden identificar virus viables (aislamiento del virus), antígenos virales (inmunohistoquímica, inmunofluorescencia directa), ácidos nucleicos virales (reacción en cadena de la polimerasa, hibridación *in-situ*) y anticuerpos IgG circulantes (inmunofluorescencia indirecta, ELISA, sueroneutralización) (Mengeling y Lager, 2000).

Aislamiento viral (VI).

La recuperación del vPRRS de los tejidos o del suero de animales sospechosos, conlleva una técnica de laboratorio complicada, tardada y costosa. El vPRRS es fácilmente inactivado por temperaturas superiores a la de congelación, así como por la autólisis generada en los órganos y tejidos de los animales afectados y que murieron por esta causa. Por ello se recomienda tomar las muestras (sangre) de animales que estén sufriendo el proceso de manera activa, o en su caso sacrificarlos para poder tomar de la mejor manera posible las muestras necesarias (suero, pulmón, tonsilas). El vPRRS se puede aislar en macrófagos alveolares del cerdo o en una línea celular continua derivada de riñones de mono verde africano conocida como células MA-104; sin embargo, el aislamiento del virus es un trabajo intenso, que tiene un bajo nivel de sensibilidad en comparación con la PCR y depende de los virus viables presentes en la

muestra. El tiempo de realización del aislamiento puede ir de 8 días a varias semanas de trabajo (Andrews, 2000; Ericsson, 2000).

Inmunohistoquímica (IHQ).

La inmunohistoquímica detecta el antígeno del vPRRS en tejidos fijados con formaldehído, utilizando diferentes sistemas de marcado y métodos de detección. Las muestras de elección para esta técnica son las tonsilas y el pulmón. Es importante señalar que el tipo de fijador utilizado, el tiempo de fijación y el método utilizado para realizar la técnica pueden influenciar los resultados que se obtengan para la misma (Andrews, 2000; Ericsson, 2000; Teifke *et al.*, 2001).

Inmunofluorescencia directa.

Prueba rápida y económica. Se utiliza tejido fresco, preferentemente pulmón, el cual se congela a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se hacen cortes finos. Se utiliza un anticuerpo monoclonal contra vPRRS conjugado con fluoresceína. La lectura se realiza en un microscopio de luz ultravioleta. Prueba específica pero no es altamente sensible, sobre todo si el tejido ha sufrido algo de autólisis (Andrews, 2000; Ericsson, 2000; Teifke *et al.*, 2001).

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Esta prueba se emplea para identificar los ácidos nucleicos virales y para caracterizar al virus; es más sensible que el aislamiento viral tradicional. Es una técnica altamente sensible y específica. Esta prueba consiste en la amplificación de un segmento del material genético del vPRRS, este segmento es la fracción ORF7 la cual codifica para la producción de la proteína de la nucleocápside y que es detectada de manera visual en una placa de gel de azarosa. Las muestras más adecuadas para realizar la técnica son: sangre completa, semen, raspados de tonsilas orales, tejido linfoide y pulmón; en el caso de la sangre, se utiliza anticoagulante; para los raspados orales se envían los hisopos en tubos con agua peptonada, medio de Stuart o infusión de cerebro-corazón. Las muestras deben ser remitidas al laboratorio inmediatamente después de haber sido colectadas. Para los casos de órganos y semen, deben enviarse en congelación, en tanto que la sangre y los raspados de tonsilas orales, en refrigeración. Es importante

cumplir con estas indicaciones para que la prueba sea exitosa, ya que el virus es muy sensible al calor. Esta prueba es recomendable para la evaluación o diagnóstico de reproductores y semen (Mengeling y Lager, 2000; Spagnuolo *et al.*, 1998; Spagnuolo *et al.*, 2000; Thomson *et al.*, 2000).

Hibridación in situ.

La hibridación *in-situ* (HIS) detecta el ARN del vPRRS en el tejido fijado con formaldehído y posee el más alto grado de sensibilidad de todos los ensayos anteriormente mencionados, pero no está disponible de forma rutinaria en la mayoría de los laboratorios diagnósticos (Andrews, 2000; Ericsson, 2000; Teifke *et al.*, 2001).

Serología.

Con lo que respecta a las pruebas serológicas, ninguna es 100% específica y sensible. Todas las pruebas tienen pros y contras en sus procesos y resultados. La interpretación de los resultados serológicos es uno de los puntos más importantes en el proceso de diagnóstico, por esta razón es primordial conocer los fundamentos de cada prueba. El tomar la muestra correcta es de vital importancia para que los resultados que se obtengan sean representativos y confiables.

En forma general, un muestreo de 30 sueros provee una confianza del 95% cuando suponemos tener una prevalencia de al menos 10% (Dee, 2000b; Chase y Polson, 2000; DiGiacomo y Koepsell, 1986).

Inmunoensayo enzimático (ELISA).

Es una técnica indirecta que utiliza un sistema de proporción muestra a positivo (S/P). IDEXX Herd Check: PRRS, ofrece un kit que tiene la ventaja de utilizar la cepa Lelystad (europea) y una americana del vPRRS, por lo que es una magnífica alternativa para el diagnóstico. Posee una sensibilidad del 95% y una especificidad del 95% además de ser rápida. La prueba de ELISA es una prueba serológica utilizada rutinariamente en los laboratorios de diagnóstico de todo el mundo. Esta prueba detecta la formación de anticuerpos frente al vPRRS de 9 a 13 días después de la exposición al virus. Los

resultados se presentan en forma de proporción de muestra a positivos (S/P) donde niveles de 0,4 o superiores se consideran positivos (Andrews, 2000; Ericsson, 2000).

Los animales persistentemente infectados con vPRRS pueden ser serologicamente positivos a la prueba de ELISA durante 56 a 225 días después de la infección. Por lo tanto, la presencia de anticuerpos en un animal vivo no vacunado, en ausencia de una viremia detectable, es indicativa de una de las siguientes situaciones:

1. El animal está persistentemente infectado con vPRRS presente en un punto tisular.
2. El animal ha eliminado el virus y ya no está infectado.
3. Se ha producido un resultado falso positivo debido a un error en la especificidad de la prueba.

La serología negativa a vPRRS en una muestra, puede tener también varias interpretaciones como pueden ser:

1. Los cerdos no están infectados con vPRRS.
2. Los cerdos fueron infectados recientemente con vPRRS pero aún no han seroconvertido.
3. Los cerdos fueron infectados con vPRRS pero son seronegativos.
4. La prueba empleada fue negativa debido a una baja sensibilidad o a un error de laboratorio.

Por lo anterior, si se realizan serologías únicas para vPRRS, los resultados deben usarse para determinar si la piara ha sido expuesta al virus y no para determinar si hay animales infectados.

El diagnóstico de infección por vPRRS como la causante de falla reproductiva o de enfermedad respiratoria puede lograrse demostrando una seroconversión en muestras subsecuentes.

Inmunofluorescencia indirecta (IFA).

Esta prueba detecta IgG, las que aparecen de 7 a 11 días postinfección, con una producción máxima a los 30-50 días y declina hasta ser detectable alrededor de los 4 a 6 meses postinfección (Andrews, 2000; Ericsson, 2000).

Esta técnica consiste en poner la muestra del suero sospechoso en contacto con células infectadas por el vPRRS, para posteriormente buscar evidencia de la reacción antígeno-anticuerpo mediante la utilización de un anticuerpo contra el vPRRS conjugado con fluoresceína. Es una prueba rápida, económica y específica (99.5% de especificidad) (Andrews, 2000; Ericsson, 2000).

La prueba de IFA sólo puede detectar anticuerpos producidos contra las cepas que se encuentren altamente relacionadas con la cepa que es utilizada en la prueba. En forma general, es necesario realizar dos pruebas simultáneas, una con la cepa norteamericana y otra con la cepa europea (Andrews, 2000; Ericsson, 2000).

Prueba por neutralización viral en suero (SVN).

Es una prueba específica, pero de baja sensibilidad. Los anticuerpos detectables por esta técnica perduran por más tiempo que los detectables por IFA y ELISA. No es una prueba muy utilizada en la actualidad, debido al costo de realización y al tiempo de respuesta para los resultados (Andrews, 2000; Ericsson, 2000).

Para una evaluación diagnóstica definitiva del vPRRS con respecto a infección actual se sugiere que la información serológica sea interpretada en combinación con los resultados de histopatología, virología e historia clínica.

La serología tiene un valor muy limitado en granjas vacunadas, ya que no existen pruebas que diferencien anticuerpos vacunales de los generados por el virus de campo. En contraste, las granjas no vacunadas presentan una buena correlación entre la seroconversión con altos valores S/P, y el RT – PCR o el aislamiento viral.

Finalmente, es muy importante considerar la posibilidad de que haya cerdos inmunotolerantes después de la infección por el vPRRS “in útero”. Esto generaría cerdos seronegativos persistentemente infectados. La infección transplacentaria por el vPRRS podría ser un evento impredecible, especialmente durante la primera mitad de la gestación (Lager y Mengeling, 2000).

1.9 Control y erradicación.

Uno de los mayores desafíos para los veterinarios consiste en el pleno entendimiento de la transmisión del vPRRS, ya que esto es una de las llaves para el control y prevención de la enfermedad (Lager y Mengeling, 2000). Muchas estrategias han sido descritas y se ha probado su eficacia en ciertas condiciones. El éxito depende de la ubicación de dónde el virus está circulando en la granja, como se manejan los animales de reposición y si hay animales o semen negativo al vPRRS disponibles (Torremorell y Baker, 2000).

El elemento clave en el control del PRRS es la reducción de la diseminación del virus dentro de la población de hembras. De este modo se evita la infección de los lechones antes del destete. Dentro de explotaciones endémicamente infectadas, hay subpoblaciones seronegativas que pueden mantener la transmisión del virus en la explotación de reproductoras a lo largo del tiempo. Un modelo para el control del PRRS se centra en la eliminación de subpoblaciones y se basa en los siguientes puntos (Polson, 2000):

1.- Tener un sistema adecuado para la introducción de primerizas dentro de explotaciones positivas a PRRS para estabilizar el pío de cría.

2.- Controlar la diseminación del virus en el destete y la engorda.

1.- Sistema para la introducción de primerizas:

Está claro que un manejo adecuado de los animales de reemplazo, es esencial para controlar la formación de subpoblaciones y la difusión del virus en la línea de

producción. Es imprescindible entender si hay diferencias entre el *status* frente al vPRRS de las hembras de reemplazo y el resto de hembras de la explotación. Si existen diferencias hay que establecer programas para la introducción de los animales (Osorio, 2002).

Uno de los sistemas que asegura un mejor equilibrio entre los animales de reemplazo y los ya existentes, es la utilización de reposición interna, es decir, parte de la población de hembras reproductoras son abuelas para la producción de las hembras de reemplazo, que se desarrollan dentro del esquema de producción normal de la explotación. Este sistema suele asegurar una gran estabilidad frente al vPRRS y otros patógenos porcinos. No obstante, el sistema no es infalible. De hecho, se podría dar una mutación de la cepa o cepas ya presentes y, por tanto, desencadenar un nuevo brote clínico de PRRS. Este sistema implica una mayor complicación para el manejo de la explotación y, seguramente por esta razón, no se utiliza con mucha frecuencia dentro del sector porcino.

La reposición externa implica la adquisición de hembras de multiplicadoras de fuera de la granja. Normalmente los métodos que mejor funcionan son aquellos que introducen las hembras a edades muy tempranas (desde 1 hasta los 56 días de vida) en las explotaciones receptoras, ya que permiten una adaptación frente al vPRRS lenta y progresiva en todas las fases de cría de los animales (destete y engorda). Estos sistemas presentan el inconveniente de tener hembras de reemplazo de varias edades, con la complicación que supone en cuanto a instalaciones y manejo. Un problema adicional que podría surgir es la reinfección de las hembras reproductoras desde el área de destete o engorda, si es que éstas se encuentran en la fase "activa" de la infección.

Hay una gran controversia dentro de los clínicos porcinos sobre si los animales de reemplazo deben ser positivos o negativos al vPRRS, para explotaciones que están endémicamente infectadas. La adquisición de hembras negativas garantiza que no se van a introducir animales con enfermedad activa en la explotación, ni animales

"portadores" crónicos y que tampoco se introduce una cepa del vPRRS distinta a la ya existente. Es obligatorio comprar reemplazos negativos cuando se plantea llevar a cabo un programa de erradicación frente a esta enfermedad. La introducción de animales procedentes de explotaciones positivas presenta mucho riesgo por la posibilidad de introducir una enfermedad activa en la granja, así como una variedad del vPRRS distinto del ya existente, contra el cual la protección que presentan los animales sería incierta. Si se opta por este último sistema, se recomienda alargar la fase de cuarentena como mínimo durante tres o cuatro meses. No obstante, hay que estudiar cada caso particular antes de tomar una decisión y cada sistema de reemplazo presenta sus ventajas e inconvenientes.

El protocolo para la aclimatación de las primerizas contra el vPRRS (Batista y Pijoan, 2000), indispensable tanto en un programa de control como de erradicación, se divide en las siguientes fases: 1) Exposición al virus (1 semana), y 2) Período de recuperación (6 a 7 semanas). Antes de la llegada y aislamiento de los animales de reemplazo, se debe localizar una fuente de virus específica de la granja de destino, para lo cual es muy útil realizar serología (ELISA) en los cerdos del destete, que es donde el virus permanece por más tiempo y en mayor concentración. Los mejores animales son aquellos que presentan linfadenopatía dentro de las dos semanas posteriores a la manifestación de los signos clínicos. Es importante seleccionar varios animales, los cuales se sacrifican y se colecta la sangre para obtener el suero, así como los linfonodos, lo cual se utilizará como inóculo de reto. Este inóculo se utilizará para las cerdas de reposición, tanto las que lleguen positivas como las negativas a la infección. Las hembras son entonces inoculadas con 1 ml de suero, o se les proporcionan 50 ml de una mezcla de sangre y linfonodos. Al preparar esta mezcla es importante que se utilice agua destilada, ya que el vPRRS es extremadamente sensible al cloro. Se espera que los animales presenten una elevación en sus títulos de anticuerpos (valor S/P ELISA de 1.8 a 2.5) dos a tres semanas después del desafío, seguido por una reducción, alrededor de 7 semanas después (valor S/P ELISA entre 1 y 1.4). Después del período de recuperación consideramos que las hembras no están virémicas y entonces pueden ingresar al área de servicios de la granja de destino. El protocolo

puede dar al menos tres tipos de respuesta serológica en los animales: 1) Animales seropositivos que presentan la respuesta típica y pueden ingresar a la granja de destino después de la semana 7, cuando su valor S/P sea \leq a 1; 2) Animales que no disminuyen su valor S/P, los cuales deberán ser desechados; 3) Hembras seropositivas que no elevan sus títulos después de la exposición y se mantienen estables, siendo la causa probable el que estos animales fueron expuestos a virus homólogos, por lo cual éstas hembras pueden ingresar al pie de cría.

Las reglas básicas que debe cumplir toda unidad de aclimatación incluyen (Batista y Pijoan, 2000): 1) Manejarse en un sistema todo dentro – todo fuera; 2) Todos los animales deberán ser expuestos al mismo tiempo; 3) Se deben sangrar al menos 30 animales los días 0, 21, 42-49 y dos semanas antes de integrarse al pie de cría; 4) Las primerizas que no hayan presentado disminución en su S/P a un mínimo de 1.0 no deben ser introducidas; 5) Estructurar un programa adecuado para el ingreso de los grupos de primerizas; 6) Contar con un protocolo escrito a detalle que deberá ser revisado con el personal encargado de la aclimatación; 7) Utilizar listas de acción para un buen control del proceso; 8) Verificar que el responsable del área sea el adecuado. Para la granja receptora, las reglas básicas que debe cumplir incluyen: 1) Cuarentena y pruebas diagnósticas; 2) Monitoreo serológico al menos cada dos meses, sobre 50 hembras como mínimo; 3) Seguir el sistema todo dentro – todo fuera en todas las áreas de producción; 4) El flujo siempre será unidireccional, y no se deben retener cerdos enfermos o retrasados; 5) No deben existir corrales de enfermos. Este protocolo, además de controlar la infección por el vPRRS, es útil para otros agentes patógenos que se pretenda controlar o erradicar en la granja.

Desde que apareció esta enfermedad, se han desarrollado vacunas comerciales para intentar conferir una protección inmune en la población de hembras reproductoras y en las hembras de reemplazo. En teoría, sería un sistema ideal para conseguir la estabilización del hato reproductor. No existen datos que permitan saber con certeza el grado de eficacia que presentan las distintas vacunas en condiciones de campo, lo que provoca una disparidad enorme de criterios sobre las condiciones de utilización, eficacia

y utilidad de las vacunas como sistema de estabilización de las hembras reproductoras, entre los clínicos porcinos (Nodelijk *et al.*, 2001; Polson *et al.*, 2000).

2.- Controlar la diseminación del virus en la línea de producción.

Si el primer punto se ha llevado a cabo con eficacia, existirá una proporción muy baja o nula de animales infectados en el momento del destete, con lo cual la afección por el vPRRS suele cursar de modo subclínico en el destete y engorda. De hecho, en granjas estables todos los animales son positivos al ELISA al final de la engorda pero no se suele observar infección clínica en ellos.

La experiencia de campo, así como muchos estudios experimentales, han puesto de manifiesto que puede haber una transmisión lateral del vPRRS, desde los animales infectados hacia los animales más jóvenes que no lo estaban. Este hecho se da con mucha más frecuencia en sistemas de producción en flujo continuo y es más improbable que ocurra si se cumple estrictamente un sistema "todo dentro-todo fuera" en destete y engorda. Si a pesar de tomar medidas, observamos que existe infección lateral del virus PRRS es muy recomendable llevar a cabo una despoblación parcial para romper el ciclo de infección que puede implicar el destete y engorda. La despoblación parcial ha sido una estrategia efectiva en el control y prevención de la diseminación del vPRRS en destetes o cerdos en finalización infectados (Dee y Joo, 1997).

Si las medidas de control en la granja de cerdas no funcionan como es debido y, por tanto, se originan una proporción importante de lechones infectados en el momento del destete, hay que aplicar una serie de medidas estrictas para disminuir el problema. Entre éstas la más eficaz incluye: el limitar la crianza cruzada de los lechones entre camadas durante los brotes de PRRS (procedimiento McREBEL) que ha demostrado el control de la mortalidad predestete y postdestete, incrementando el desempeño de los lechones destetados. El proceso consiste básicamente en: 1) No hacer donación de lechones 18 horas después del parto; 2) No mover lechones ni hembras entre maternidades; 3) Sacrificar lechones nacidos débiles y de bajo peso; 4) No utilizar

nodrizas para lechones nacidos débiles; 5) Evitar el manejo excesivo de los lechones; 6) Utilizar una aguja por camada para la aplicación de inyectables; 7) Manejo estricto todo dentro – todo fuera; 8) Estricta limpieza y desinfección en las instalaciones. Este proceso ha demostrado su efectividad incluso en granjas sin la evidencia de infección por el vPRRS (McCaw, 2000).

Cuando se controla la infección por el vPRRS, el objetivo es limitar el daño por el virus en las diferentes fases de producción. Esto es logrado básicamente por el manejo de los animales de reposición. Reemplazos serológicamente positivos o negativos son expuestos al vPRRS en la unidad de aclimatación o aislamiento, son mantenidos hasta que se recuperan de la infección y son entonces introducidos al hato reproductor cuando son inmunes pero no infecciosos. El criterio de corto plazo sobre el control del vPRRS es la exitosa producción de cerdos en la presencia del virus en cualquiera de las fases de producción. En suma, las medidas de control son vistas como pasos prioritarios en cualquier programa de erradicación (Torremorell *et al.*, 2000).

El control de la infección por el vPRRS en las granjas porcinas ha probado ser un proceso muy tedioso con posibilidades de éxito variable, a veces impredecible. Debido a las dificultades en el control de esta enfermedad y el costo asociado a ello, la erradicación parece ser una alternativa sensata para el manejo del problema (Torremorell *et al.*, 2000). Recientemente ha habido muchos reportes en los cuales la idea de erradicar el vPRRS, no sólo controlarlo, ha sido explorada. Algunos de los informes se han basado en:

- 1) Prueba y Remoción (Dee *et al.*, 2000).
- 2) Cierre de la granja y reposición con animales negativos (Torremorell y Baker, 2000).
- 3) Despoblación y repoblación total de la granja con pío de cría negativo (Dee *et al.*, 2000).

El objetivo de la erradicación del vPRRS es eliminar la presencia del virus de los sistemas de producción infectados. El virus debe ser eliminado de todas las fases de producción para poder considerar un sistema de producción negativo, y el sistema debe

demostrar el *status* negativo a través del tiempo. Con estos mismos objetivos es imperativo tener hembras y sementales de reposición negativos. La erradicación del vPRRS es un proceso a largo plazo y tiene como criterio la exitosa producción de cerdos en ausencia de la infección viral (Torremorell *et al.*, 2000).

A. Prueba y Remoción (Dee *et al.*, 2000).

Se recomienda para granjas con prevalencias menores al 15% y con producción en un sistema segregado. Consiste en realizar un muestreo del 100% de los animales del pie de cría y eliminar de la granja a los animales positivos.

Los principios científicos en que se basa la prueba son:

- 1) Resultados obtenidos con la eliminación de la Enfermedad de Aujeszky y Actinobacilosis.
- 2) Persistencia del vPRRS virulento en animales adultos.
- 3) El vPRRS se puede transmitir en forma vertical y horizontal.
- 4) Solo el 50% de las muestras de tonsilas son positivas en animales infectados.
- 5) El manejo de las cerdas de reposición controla la difusión del vPRRS en el pie de cría.
- 6) Cerrar el pie de cría al ingreso de nuevos animales en combinación con el uso de un sitio adecuado para aclimatarlos, reduce significativamente la seroprevalencia en el pie de cría.
- 7) Prueba y remoción, en combinación con la despoblación parcial de los destetes, ha resultado en la eliminación del vPRRS en granjas comerciales de pie de cría.
- 8) Se requiere una baja seroprevalencia (<15%) para minimizar los costos de implementación.

El protocolo, establecido en un proceso de 12 meses y dividido en tres períodos específicos de cuatro meses y encaminado a reducir la seroprevalencia del vPRRS en el pie de cría, consiste en (Dee *et al.*, 2000): 1) En los meses 1 a 4 se suspende el ingreso de pie de cría de reposición, el cual se desarrolla en un sitio aparte (hembras de

2 a 4 meses de edad), reduciendo la tasa de reposición al 15% anual; 2) En los meses 5 a 8 se ingresan a la granja las cerdas desarrolladas en el punto anterior y la tasa de reposición se incrementa al 65% anual; 3) En los meses 9 a 12 se empiezan a ingresar a la granja cerdas de reposición negativas hasta que la seroprevalencia sea inferior al 15%.

El protocolo de la “prueba y remoción” inicia cuando se logra la seroprevalencia inferior al 15%. Todo el pie de cría se prueba en un día, tanto para ELISA como para Taqman PCR y todos los animales positivos a alguna o ambas pruebas son desechados, manteniéndose sólo los animales negativos a ambas pruebas. El pie de cría es entonces monitoreado por ELISA sobre la base de un 95% de confianza y esperando un 5% de prevalencia, durante un año. Cuando la granja se mantiene negativa a ELISA por un año, se considera que la granja está libre del vPRRS. Los animales positivos a ELISA se vuelven a verificar, y en caso de volver a ser positivos, son removidos del grupo y se sacrifican. Se toman muestras de tejido linfóide para probarse por PCR, aislamiento viral e inmunohistoquímica, buscando al vPRRS.

B. Cierre de la granja e introducción de reemplazos negativos en granjas positivas (Torremorell y Baker, 2000).

Se recomienda en granjas con producción en sistema segregado, consiste en interrumpir la entrada de animales de reemplazo por un tiempo mínimo de 4 meses, con la posterior introducción de animales negativos a la enfermedad.

Los principios que soportan este proceso son:

- 1) En poblaciones cerradas, las infecciones virales desaparecen con el tiempo.
- 2) Cerdos infectados previamente y que seroconvirtieron al vPRRS son inmunes a desafíos experimentales con virus homólogos.
- 3) Identificación de las posibles fuentes de virus y establecimiento de medidas de bioseguridad para limitar su difusión, e incluso evitar el ingreso de nuevas cepas virales.
- 4) Determinación de la dinámica de la infección viral en la granja.

- 5) Disposición de animales y semen negativo al virus.
- 6) Uso de centinelas como indicadores biológicos.
- 7) Eliminación y reposición de cerdas infectadas.

Esta estrategia se basa en la introducción de reemplazos negativos, en granjas seropositivas, en el momento en que no hay evidencia de recirculación viral en el pie de cría, mediante un proceso normal de reemplazo. Con esto, se desarrolla una población de animales negativos a través del tiempo. Para esto se requiere: 1) La granja deberá ser sólo de Sitio 1 (pie de cría y maternidades); 2) La granja se deberá cerrar a la introducción de animales (mínimo 4 meses); 3) Mantener a los últimos animales positivos que ingresaron aislados de los demás grupos de producción; 4) Después de los 4 meses y corroborando con el uso de centinelas que no hay virus circulando, ingresar sólo reemplazos negativos; 5) Mantener la integridad de cada grupo de partos, ya sean hembras positivas o negativas, evitar la crianza cruzada de lechones entre ambos grupos, y los animales se pueden mezclar al destete; 6) Despoblación de los destetes en caso de que no haya multisitios o producción fuera de sitio; 7) Monitoreo serológico por ELISA de las hembras negativas, y los grupos de destetados y engorda; 8) Las granjas adecuadas para adoptar este protocolo son aquellas positivas y endémicas al vPRRS; 9) Estas granjas deberán haber tenido consistentemente un programa de aclimatación de primerizas con exposición al vPRRS.

Se considera que el programa tuvo éxito cuando no se observen signos clínicos de PRRS, el *status* negativo al vPRRS debe ser logrado para toda la granja y cualquier búsqueda de la presencia de virus debe ser negativa, la ausencia del virus deberá ser confirmada por pruebas adecuadas periódicas, aseguramiento de la salud de la piara y reemplazos negativos, fuentes negativas conocidas para semen y hembras de reposición, que serán continuamente monitoreadas; y la eliminación de todos los animales que estuvieron infectados en algún momento de su vida. Para tener la granja negativa se requiere la eliminación de todos los animales seropositivos, por lo que se trata de un trabajo de largo plazo (por lo menos 1 a 2 años).

C. Despoblación y repoblación total de la granja con pío de cría negativo.

Eliminar de la granja el 100% de los animales y repoblar con animales negativos a la enfermedad.

2.0 JUSTIFICACIÓN.

El PRRS ha tenido un fuerte impacto sobre la industria porcina mundial, ocasionando grandes pérdidas; actualmente se sabe que la eficiencia productiva es superior en granjas libres de la enfermedad que en aquellas que coexisten con ella (Batista y Pijoan, 2002; Kerkaert *et al.*, 1994; Ontanu y Mandescu, 2000; Pejsak *et al.*, 1997). Por lo que es necesario realizar estudios donde se apliquen las herramientas diagnósticas existentes y con ello implementar procedimientos de control eficientes y adecuados a los sistemas de producción nacionales, que permitan lograr la eliminación del vPRRS en las granjas.

3.0 HIPÓTESIS.

Por medio de un sistema que combine las técnicas de cierre de granja a la entrada de hembras de reemplazo y despoblación de la línea de producción, es factible la eliminación del vPRRS en una granja de ciclo completo con 300 vientres.

4.0 OBJETIVO GENERAL.

Establecer los procedimientos apropiados para eliminar el vPRRS en una granja de ciclo completo.

4.1 Objetivos particulares.

Determinar el patrón de comportamiento de la enfermedad, en la granja afectada, con el fin de establecer las estrategias adecuadas para su control y erradicación.

Evitar la circulación viral en el hato reproductor mediante la técnica de “cierre de granja” a la entrada de hembras de reemplazo, por un periodo mínimo de 6 meses.

Evitar la circulación del virus en la línea de producción mediante la técnica de despoblación.

Eliminar los animales seropositivos por medio de los flujos de reemplazo y de producción, propios de la granja.

5.0 MATERIAL Y MÉTODO.

5.1 Características generales de la granja.

El trabajo de investigación se realizó en una granja de ciclo completo productora de pie de cría, con instalaciones semitecnificadas, ubicada en el Estado de México, con capacidad de 300 hembras, y sistema de producción en “bandas” cada 4 semanas. El sistema de alimentación es manual y se utiliza alimento de marca comercial. Se encuentra delimitada por una cerca perimetral y cuenta con baños para personal de trabajo y visitas; todas las personas que entran se deben bañar, tanto a la entrada como a la salida y vestir ropa propia de la granja. El alimento es abastecido por camiones y recibido en un punto localizado en el perímetro de las instalaciones. La granja recibe animales de reemplazo cada 6 a 8 semanas, y dado que produce dos líneas genéticas, lo hace de dos fuentes, una es externa y otra es de autoreemplazo. De manera general la granja está integrada por seis áreas; las cuales se describen a continuación:

1.- Área de cuarentena. Se encuentra localizada a 200 m de la granja y 400 m del sitio de servicios y gestación. Es un edificio con 4 corrales de piso de cemento. Tiene una capacidad para 60 hembras. Los animales permanecen el tiempo necesario, según los lineamientos del programa de control del PRRS específico para esta granja. En esta zona se inicia el calendario de vacunación de las hembras de reemplazo.

2.- Área de aclimatación de las hembras de reemplazo. En este espacio permanecen 2 semanas las hembras antes de ser introducidas a la zona de servicios y gestación. En esta área se concluye el calendario de vacunación de las hembras de reemplazo propio de la granja.

3.- Área de servicios y gestación. Esta zona se encuentra ubicada en un edificio independiente. Se utiliza la inseminación artificial en un 100%. Las hembras se alojan en jaulas individuales, con bebedero tipo chupón. Tiene capacidad para 240 animales. La permanencia de los animales es, en promedio, de 110 días.

4.- Área de maternidad. Es un edificio que está dividido en 5 casetas con 12 jaulas de parto, cada una. Existe un sistema de programación de partos y se desteta a los 19 días de edad. Tiene capacidad para 60 hembras, las cuales permanecen en promedio 23 días.

5.- Área de destetes. Es un edificio de 8 casetas con 6 corrales cada una, con pisos de malla trenzada. Cada caseta tiene capacidad para 120 animales. El área alberga dos bandas de producción (900 animales). Los lechones permanecen 49 días en promedio.

6.- Área de Engorda. Son dos edificios de 8 casetas cada uno, con pisos de cemento. Tiene capacidad para cuatro bandas de producción (1800 animales). Los animales permanecen 105 días en promedio. Esta granja envía hembras de reemplazo, de diferentes pesos y edades, a otras granjas.

5.1.1 Antecedentes de la granja.

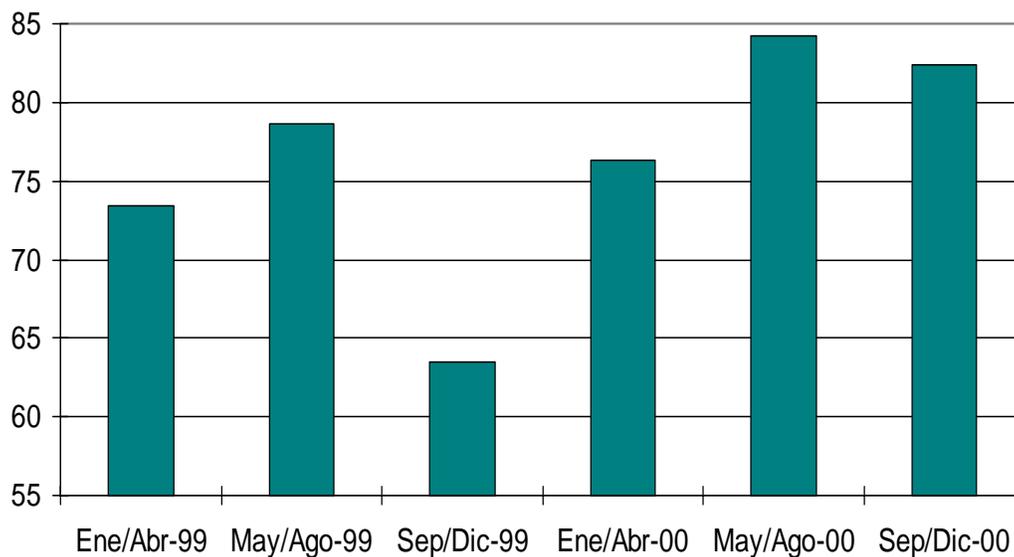
El sistema de producción, donde se realizó el trabajo de investigación, cuenta con antecedentes de la enfermedad del PRRS desde el año de 1997, y con un programa para su control a partir del año de 1998 (Cuadro 1); a partir del año 2000 se estableció el sistema de producción en “bandas” para coadyuvar con el programa de control original.

El programa de control para el PRRS, aplicaba entre otros, los siguientes procedimientos: en la fase de cuarentena un muestreo serológico de entrada para la detección de anticuerpos contra el virus de PRRS mediante la técnica de ELISA (IDEXX Herd Check: PRRS), al 10% de las hembras durante la primera semana de estancia; exposición a placentas, momias y heces, de las hembras de maternidad (“feed back”), durante la segunda y tercera semana; una segunda evaluación serológica (serología de salida) al final de esta etapa; y paso a la fase de aclimatación, siempre y cuando los valores S/P para vPRRS en la segunda evaluación serológica fueran menores que en la primera.

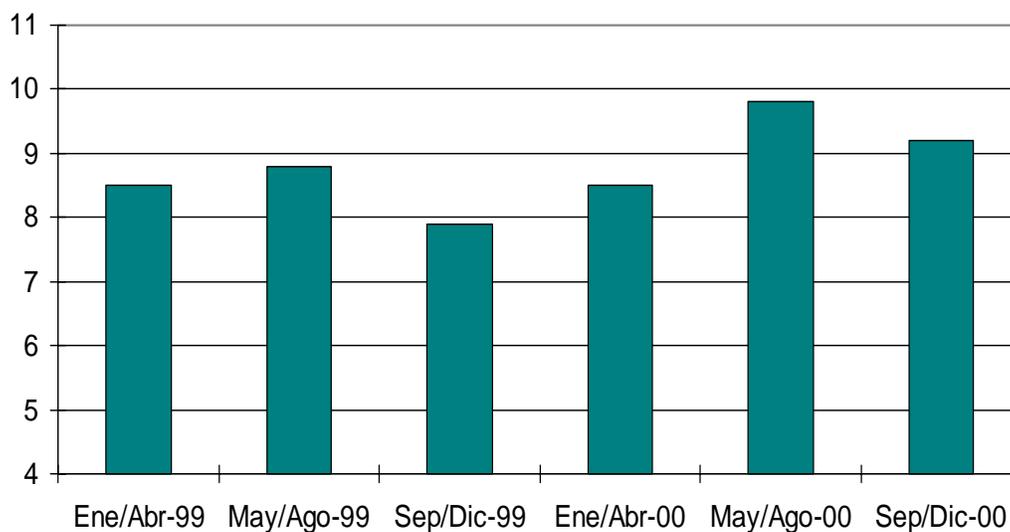
Cuadro 1. Programa de acondicionamiento de las hembras de reemplazo para su introducción a la granja.

| Fase de Cuarentena | | | | | | | |
|--|--|--|--|---|---|---|--|
| 1a Semana | 2a Semana | 3a Semana | 4a Semana | 5a Semana | 6a Semana | 7a Semana | 8a Semana |
| Serología de entrada (PRRS, VEA, EOA, Parvo., Lepto., Influenza y GET) | Mezcla de animales de la fuente externa con animales de autorenplazo Feed Back Vac. FPC Detección de calores. | Descanso viremia Feed Back Detección de calores. | Descanso viremia Vac. Parvo Vac. Lepto. Detección de calores. | Descanso viremia Detección de calores. | Descanso viremia Vac. FPC Detección de calores. | Descanso viremia Detección de calores. | Descanso viremia Vac. Parvo Vac. Lepto. Detección de calores. |
| Fase de Aclimatación | | | | | | | |
| 9a Semana | 10a Semana | | | | 1a Semana | 2a Semana | 3a Semana |
| Descanso viremia Serología de salida. Detección de calores. | Descanso viremia Vac. Erisipela Detección de calores. | | | | Detección de calores. | Vac. E. coli. Detección de calores. | Monta |

Al analizar el comportamiento productivo de los dos años previos a la implementación del programa de erradicación se observó que, independientemente de la existencia de un programa de control a PRRS, existía una variabilidad marcada en algunos datos productivos y serológicos; la fertilidad oscilaba entre 63 y 84 por ciento, una variabilidad de más de veinte puntos (Gráfica 1) y el promedio de lechones destetados por hembra se movía entre 7.9 y 9.9, dos lechones promedio de variación (Gráfica 2).

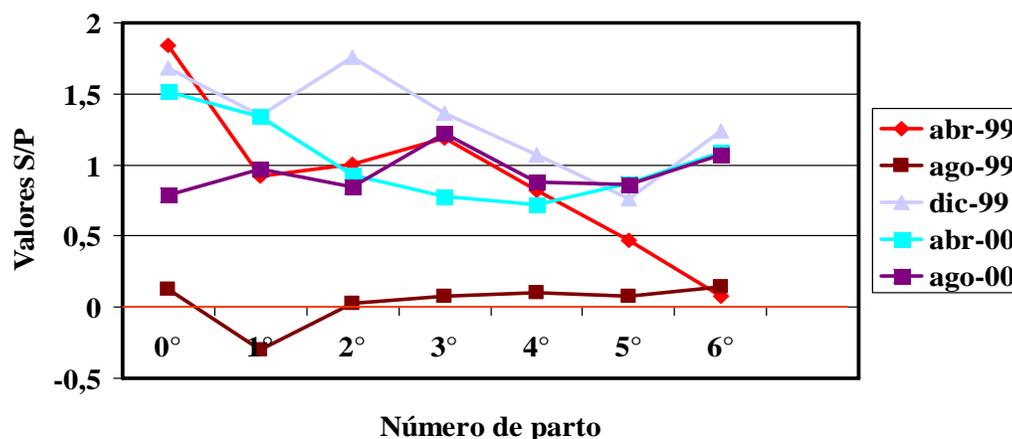


Gráfica 1. Porcentaje de fertilidad por cuatrimestre de los 2 años previos al inicio del programa de erradicación.

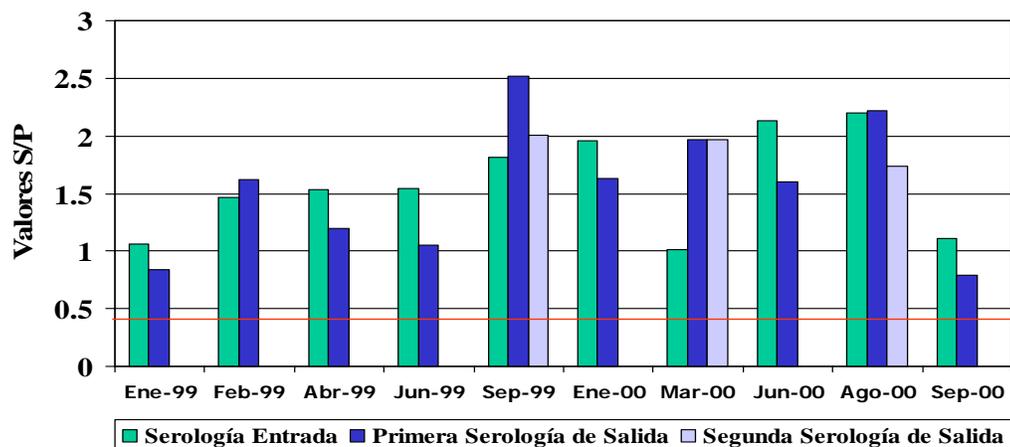


Gráfica 2. Promedio de lechones destetados por parto por hembra durante los 2 años previos al inicio del programa de erradicación.

Lo anterior sugiere la presencia del virus en el hato y la expresión clínica de la enfermedad en forma recurrente aproximadamente cada 12 meses; lo que se puede relacionar a que posterior a la aparición de un brote clínico en el área reproductiva la inmunidad del hato reproductor aumentaba y se estabilizaba, posteriormente y debido al reemplazo de hembras, al cabo de aproximadamente un año el 50% del hato reproductor no habían experimentado el brote clínico anterior, por lo tanto la población de hembras reproductoras era para ese momento inmunológicamente heterogénea (Gráfica 3) y por lo tanto susceptible de experimentar enfermedad clínica; la cual podría deberse a infección horizontal (proveniente del área de destete) o a la introducción de una variante del virus; ya que se adquirían hembras de reemplazo de una fuente positiva, las cuales también tenían un comportamiento serológico inconstante (Gráfica 4) que se observaba cuando los valores S/P promedio de salida de cuarentena eran mayores a los de entrada (indicadores de actividad viral), con la necesidad de prolongar el tiempo de estancia en cuarentena y realizar un muestreo serológico más, para la salida de las hembras de la cuarentena.



Gráfica 3. Perfiles serológicos transversales al vPRRS de las hembras del pie de cría correspondientes a los años 1999 y 2000.

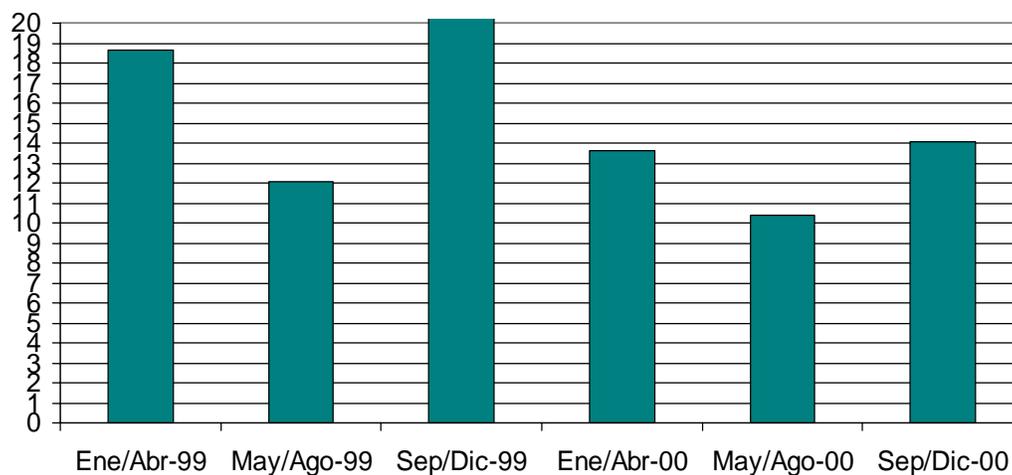


Punto de corte: 0.4

La segunda serología de salida se tomó cuando en la primera no se observó tendencia hacia la baja.

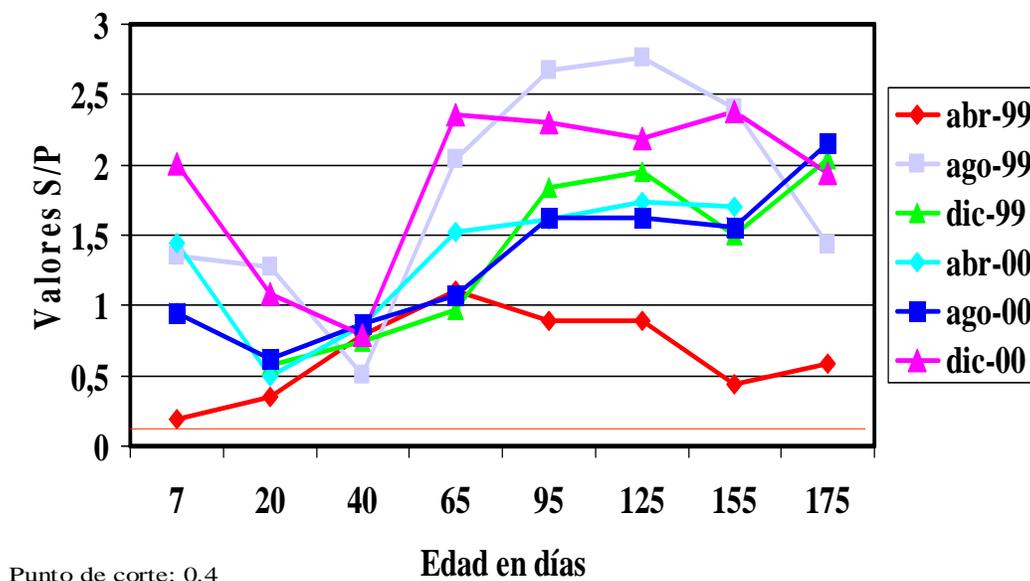
Gráfica 4. Comportamiento serológico de las hembras de reemplazo en el área de cuarentena de los 2 años previos al inicio del programa de erradicación.

En la línea de producción, el parámetro de mortalidad de los dos años previos al inicio del trabajo, observó, al igual que en la fertilidad, un comportamiento irregular, con valores desde un 10 hasta un 25 por ciento (Gráfica 5), con presencia de signología clínica en el área de destete o al inicio de la fase de engorda.



Gráfica 5. Porcentaje de mortalidad en la línea de producción por cuatrimestre de los 2 años previos al inicio del programa de erradicación.

Por otro lado, la información serológica presentaba un comportamiento más estable, con seroconversión entre los 40 y 65 días de edad (Gráfica 6), que correspondían al área de destete o al inicio de la fase de engorda; dicha seroconversión se relacionaba con la presentación clínica de la enfermedad.



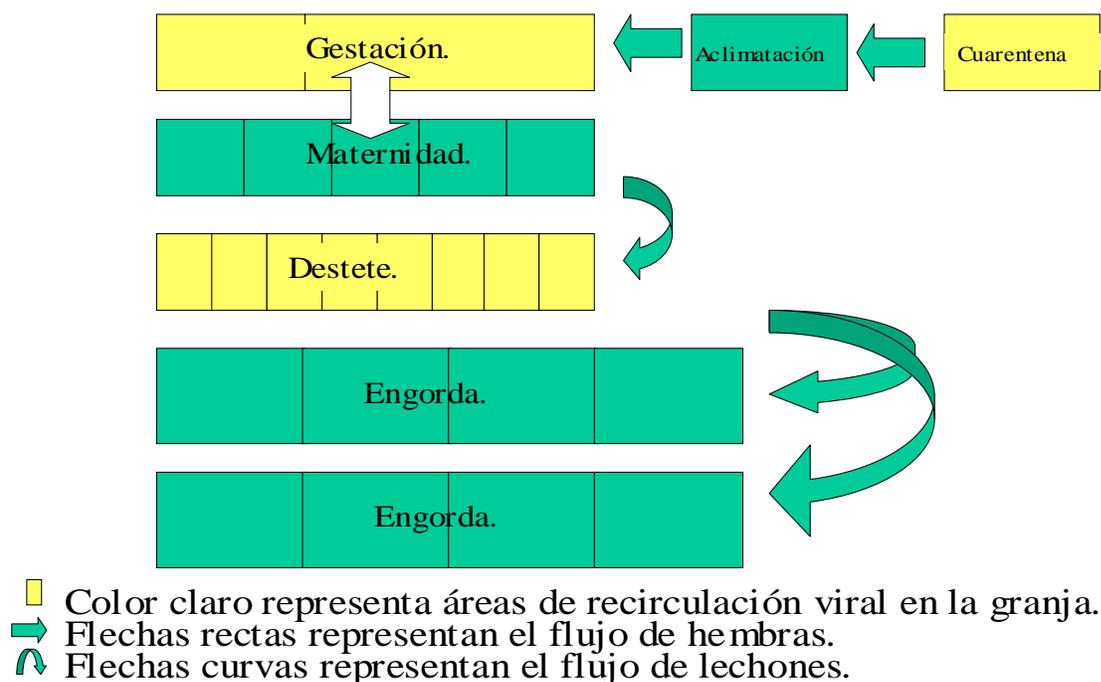
Gráfica 6. Perfiles serológicos transversales al vPRRS en la línea de producción correspondientes a los años 1999 y 2000.

Un análisis integral de la información productiva y serológica, identificó el patrón epidemiológico del virus dentro del sistema de producción. Dicho patrón determinó como puntos de circulación viral las áreas de cuarentena, gestación y destete (Gráfica 7); y permitió establecer un programa encaminado a la erradicación de la enfermedad, que estuvo integrado por las siguientes estrategias:

- 1.- Evitar el flujo de animales de reemplazo al área de gestación.
- 2.- Evitar el flujo de lechones al área de destetes.

3.- Implementar un sistema de monitoreo para la enfermedad.

4.- Introducir animales libres de la enfermedad y establecer un sistema de vigilancia epidemiológica para verificar su *status*.



Gráfica 7. Flujo de animales en la granja.

5.2 Método.

El presente estudio se realizó en un lapso de 20 meses; y fue dividido en 3 fases: 1) Cierre de la granja a la entrada de hembras de reemplazo; 2) Despoblación de la línea de producción; y 3) Introducción de animales libres de la enfermedad (reemplazos y repoblación de la línea de producción).

Durante el tiempo que permaneció cerrada la granja, a la entrada de hembras de reemplazo, se realizaron perfiles serológicos transversales a intervalos de cuatro

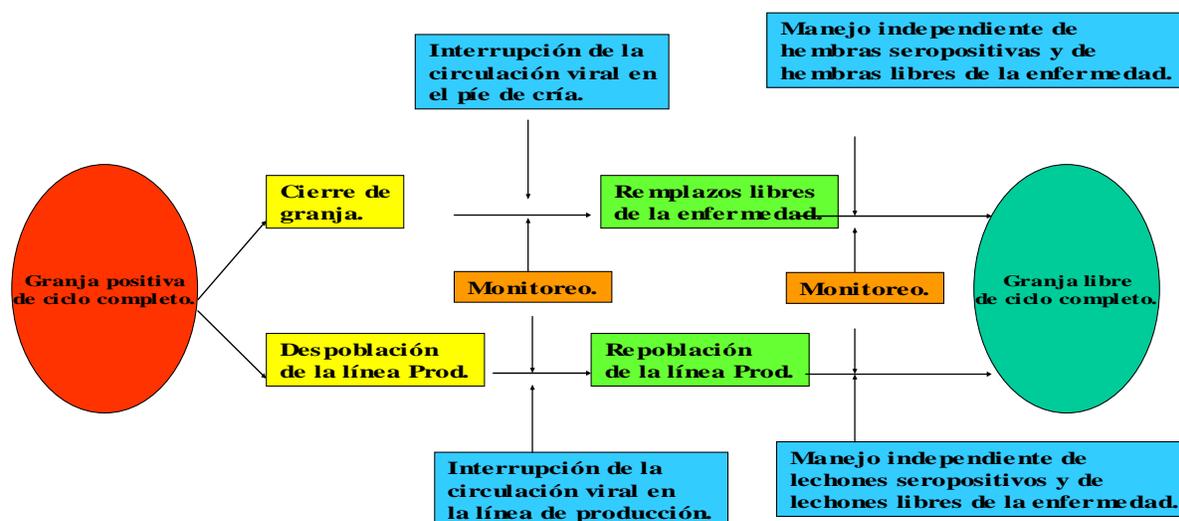
meses; los cuales incluyeron tanto animales del hato reproductor, como de la línea de producción, con el fin de mantener la vigilancia epidemiológica de la enfermedad en la granja (Cuadro 2). Dichos perfiles contemplaron un 95% de confianza y un 10% de precisión, considerando una prevalencia del 30% (Dee, 2000b; Chase y Polson, 2000; DiGiacomo y Koepsell, 1986).

Cuadro 2. Cronograma del muestreo serológico.

| | Ago-01 | Dic-01 | Abr-02 | Ago-02 | Dic-02 | Total |
|----------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|------------|
| Total Lechones (muestras) | 2000 (70) | 2000 (70) | 2000 (70) | 2000 (70) | 2000 (70) | 350 |
| Total Hembras (muestras) | 300 (40) | 300 (40) | 300 (40) | 300 (40) | 300 (40) | 200 |
| Total | 110 | 110 | 110 | 110 | 110 | 550 |

Lechones: 10 muestras a las edades de 7, 20, 40, 63, 98, 126 y 155 días de edad.
Hembras: 5 muestras de los partos 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7.

La metodología de cada fase se ilustra en la Gráfica 8, y se describe a continuación:



Gráfica 8. Representación esquemática de la metodología.

5.2.1 Cierre de granja a la entrada de hembras de reemplazo.

La interrupción en el flujo de hembras de reemplazo al área de gestación tuvo la finalidad de evitar la reactivación constante del virus en los animales reproductores, y se basa en observaciones de campo que muestran que en hatos “cerrados” la prevalencia de la enfermedad disminuye y la población tiende a la negatividad clínica y serológica (Torremorell y Baker, 2000).

El cierre de la granja se realizó sin detrimento en los inventarios, para lo cual se estableció una cuarentena con la suficiente cantidad de animales, que permitió no introducir nuevos animales por un periodo mínimo de 6 meses, sin afectar el presupuesto de cargas. Se introdujeron 50 hembras de reemplazo de la fuente externa y 50 hembras de autoreemplazo, lo que dio un total de 100 hembras, que correspondió al número de animales de reemplazo necesario para 6 meses (considerando un porcentaje anual de reemplazo de 45% y un 32% de eliminación de estas hembras antes de la monta). El total de las hembras fue estratificado en edades que variaron desde 30 hasta 126 días de edad.

El cierre de la granja inició en el mes 4 del programa de erradicación y terminó en el mes 13, con un tiempo total sin recibir hembras de reemplazo de 8 meses.

5.2.2 Despoblación de la línea de producción.

El flujo de animales, del área de maternidad hacía los destetes, fue interrumpido al enviar los lechones, al momento del destete, a dos granjas alternas, acondicionadas para alojarlos hasta la venta; la granja alterna 1 con capacidad para 2 bandas de producción y la granja alterna 2, para 4.

La ausencia de actividad viral en el hato reproductor se consideró al producir animales seronegativos a la enfermedad en la línea de producción (destete y engorda). Este criterio fue tomado como base, para decidir el momento adecuado para iniciar la repoblación de la línea de producción en la granja.

La despoblación de la línea de producción inició en el mes 5 del trabajo de investigación y finalizó en el mes 9. La repoblación de los destetes se permitió a partir del mes 13, con un tiempo total sin animales en las áreas de destete y engorda de 3 meses.

5.2.3 Introducción de animales libres de la enfermedad.

Cuando la descendencia del pío de cría se mantuvo clínica y serológicamente negativa a la enfermedad, se determinó que el virus ya no estaba presente en el hato reproductor, y que los lechones producidos (aunque serológicamente positivos a edades tempranas por la inmunidad pasiva) estaban libres de la enfermedad; por lo tanto se permitió la repoblación de la línea de producción. Los reemplazos que entraron desde ese momento en adelante fueron negativos al vPRRS. Se establecieron flujos de animales (pío de cría y línea de producción) diferenciados, que permitieron un monitoreo adecuado de los animales libres de la enfermedad y la eliminación progresiva de los animales reproductores seropositivos.

La introducción de hembras negativas a la enfermedad y la repoblación de los destetes ocurrió a partir del mes 13 del programa de erradicación.

6.0 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Para evaluar el efecto del programa de erradicación del vPRRS en lo referente a los datos productivos de fertilidad, de lechones destetados promedio por hembra por parto, de la mortalidad en la línea de producción y de la ganancia diaria de peso de nacimiento a venta, se utilizó regresión lineal simple; esta prueba estadística también se utilizó para el análisis de la información serológica correspondiente a los perfiles transversales. La serología de los animales libres de la enfermedad fue analizada por la prueba de chi cuadrada, para bondad de ajuste.

7.0 RESULTADOS.

El presente estudio se realizó en tres fases, por lo tanto los resultados se presentan de la misma manera.

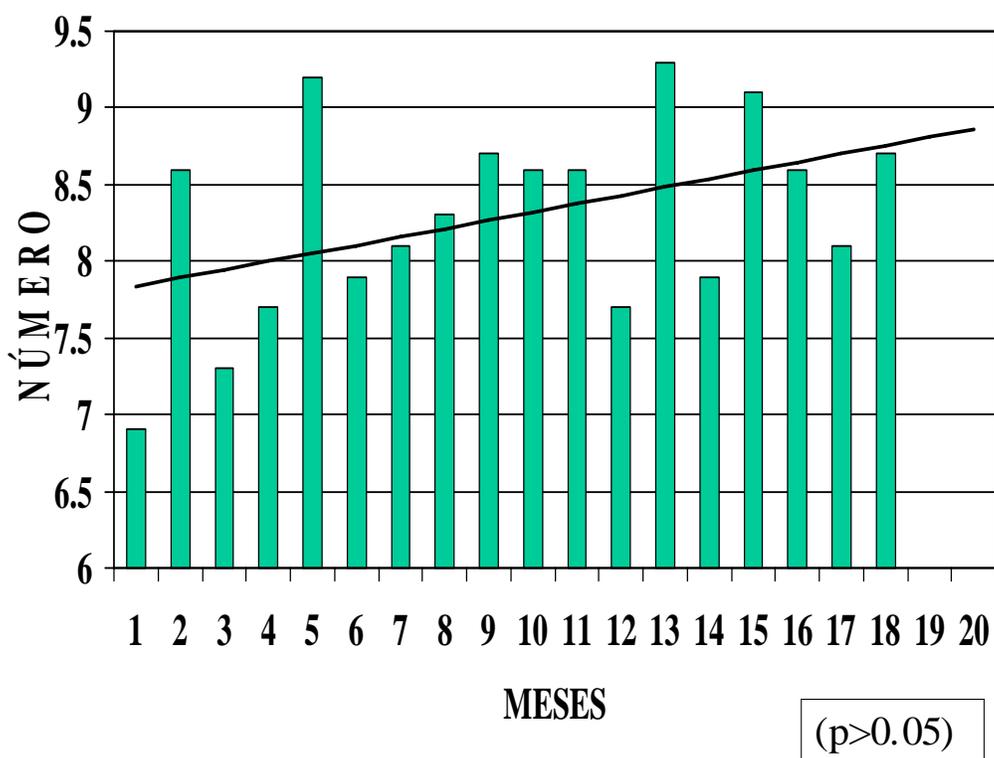
7.1 Cierre de granja a la entrada de hembras de reemplazo.

El Cuadro 3 muestra los datos de fertilidad, donde se encontró relación lineal estadística ($p < 0.05$) entre el tiempo de cierre de granja y la mejora en el parámetro de % fertilidad; sin embargo, no se encontró evidencia ($p > 0.05$) de que al transcurrir el tiempo del cierre de la granja se mejorara el parámetro de lechones destetados promedio por parto por hembra (Gráfica 9).

Cuadro 3. Porcentaje de fertilidad observado durante el programa de erradicación.

| | | | | | | | | | | |
|-------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Meses | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Fertilidad | 86.2 | 74.6 | 72.6 | 67.1 | 81.7 | 66.1 | 71.0 | 73.7 | 75.8 | 87.3 |
| | | | | | | | | | | |
| Meses | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
| Fertilidad | 79.7 | 88.9 | 80.3 | 91.0 | 86.7 | 90.6 | 90.5 | 87.7 | 73.4 | 84.7 |

($p < 0.05$)



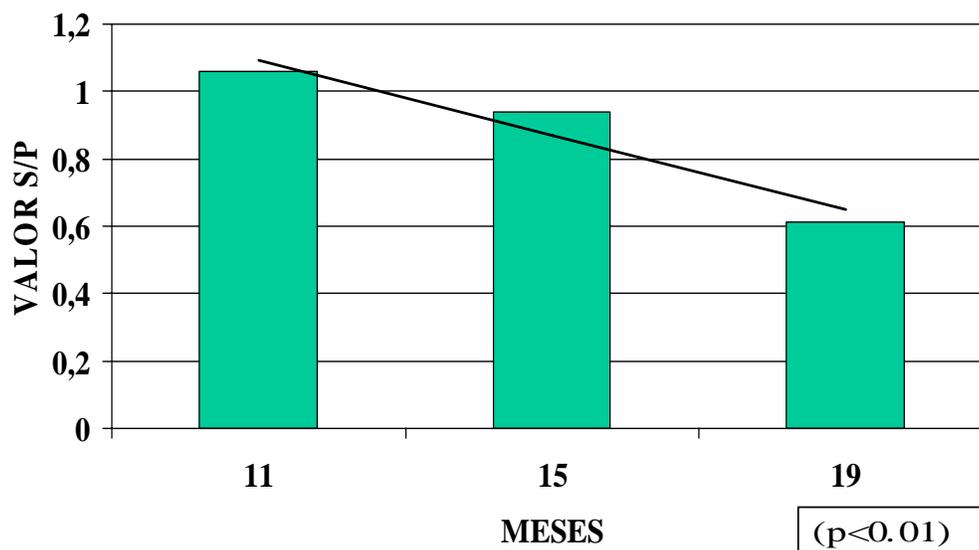
Gráfica 9. Efecto del programa de erradicación sobre los lechones destetados promedio por parto por hembra.

En el Cuadro 4, se presentan los datos de los perfiles serológicos realizados a intervalos de 4 meses. No se encontró evidencia ($p>0.05$) de relación lineal entre los datos de los 5 perfiles analizados. Sin embargo, se observó que los 3 últimos perfiles (Gráfica 10) tienen una relación lineal altamente significativa ($p<0.01$).

Cuadro 4. Serología realizada a las hembras del pío de cría durante el programa de erradicación.

| Meses | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|-------------------|-------|----|-------|----|-------|----|-------|----|-------|----|
| Serología Hembras | | | 0.931 | | | | 0.800 | | | |
| | | | | | | | | | | |
| Meses | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
| Serología Hembras | 1.050 | | | | 0.938 | | | | 0.614 | |

($p > 0.05$)



Gráfica 10. Comportamiento serológico de las hembras del pío de cría en los últimos 3 perfiles.

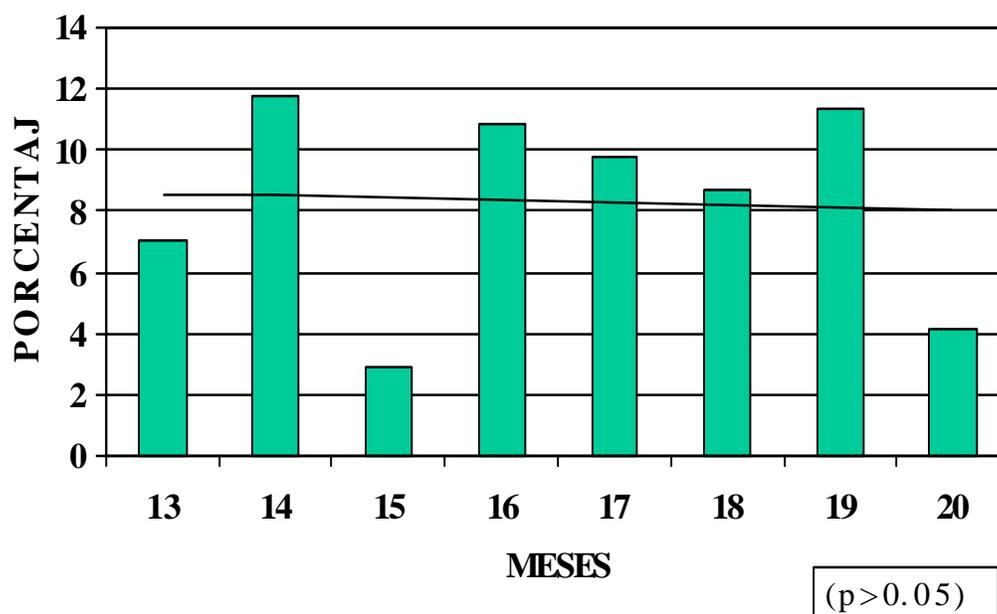
7.2 Despoblación de la línea de producción.

En el Cuadro 5 se observa el comportamiento de la mortalidad en los animales de la línea de producción. Se encontró evidencia de relación lineal ($p < 0.05$) entre el cierre de la granja y la disminución de la mortalidad en el área de destete y engorda. Sin embargo, no se encontró relación significativa ($p > 0.05$) entre el transcurso de los meses después de repoblar la línea de producción y la disminución en el porcentaje de mortalidad (Gráfica 11). Se observó una relación positiva altamente significativa ($p < 0.01$) entre la ganancia diaria de peso y el tiempo después del inicio del programa de erradicación (Cuadro 6).

Cuadro 5. Porcentaje de mortalidad en la línea de producción observado durante el programa de erradicación.

| | | | | | | | | | | |
|-----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Meses | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Pérdidas | 14.1 | 7.7 | 33.0 | 11.6 | 13.6 | 18.1 | 28.0 | 21.2 | 12.7 | 10.9 |
| | | | | | | | | | | |
| Meses | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
| Pérdidas | 18.6 | 20.3 | 7.0 | 11.8 | 2.9 | 10.8 | 9.8 | 8.7 | 11.3 | 4.1 |

($p < 0.05$)



Gráfica 11. Porcentaje de mortalidad observado después de la repoblación en la línea de producción.

Cuadro 6. Ganancia diaria de peso observada en los animales de la línea de producción observada durante el programa de erradicación.

| Meses | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|-------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| GDP | 489 | 458 | 512 | 522 | 503 | 532 | 530 | 511 | 464 | 577 |
| | | | | | | | | | | |
| Meses | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
| GDP | 543 | 567 | 514 | 526 | 554 | 653 | 544 | 526 | 676 | 645 |

(p < 0.01)

El Cuadro 7 muestra los datos de los perfiles serológicos realizados a intervalos de 4 meses en la línea de producción, dichos datos al ser analizados presentaron relación lineal altamente significativa hacia la baja ($p < 0.01$) durante el tiempo que duro el programa de erradicación.

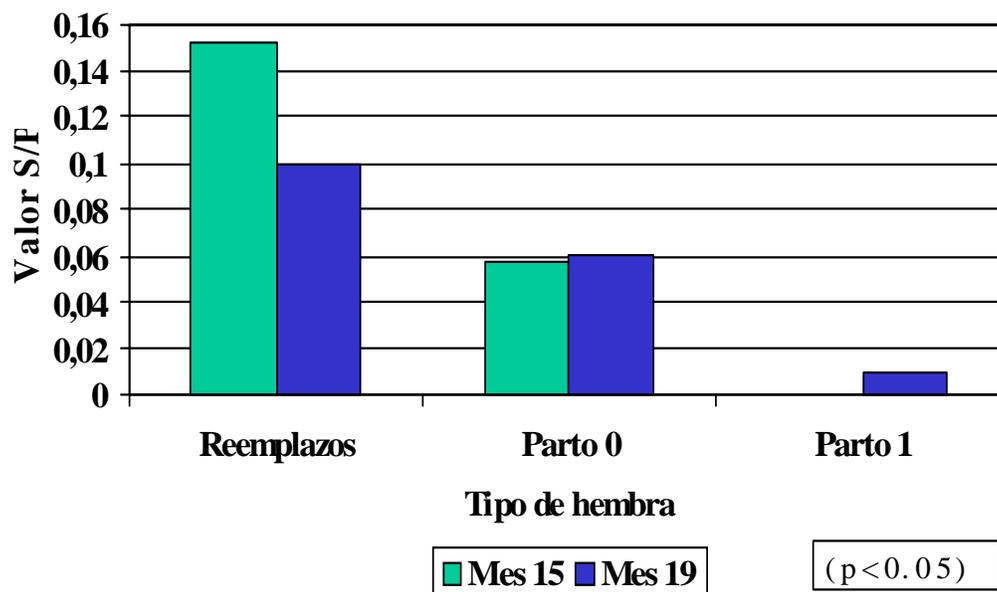
Cuadro 7. Serología realizada a los animales de la línea de producción durante el programa de erradicación.

| Meses | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|-----------------|-------|----|-------|----|-------|----|-------|----|-------|----|
| Serología Línea | | | 1.328 | | | | 1.164 | | | |
| | | | | | | | | | | |
| Meses | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
| Serología Línea | 1.007 | | | | 0.823 | | | | 0.067 | |

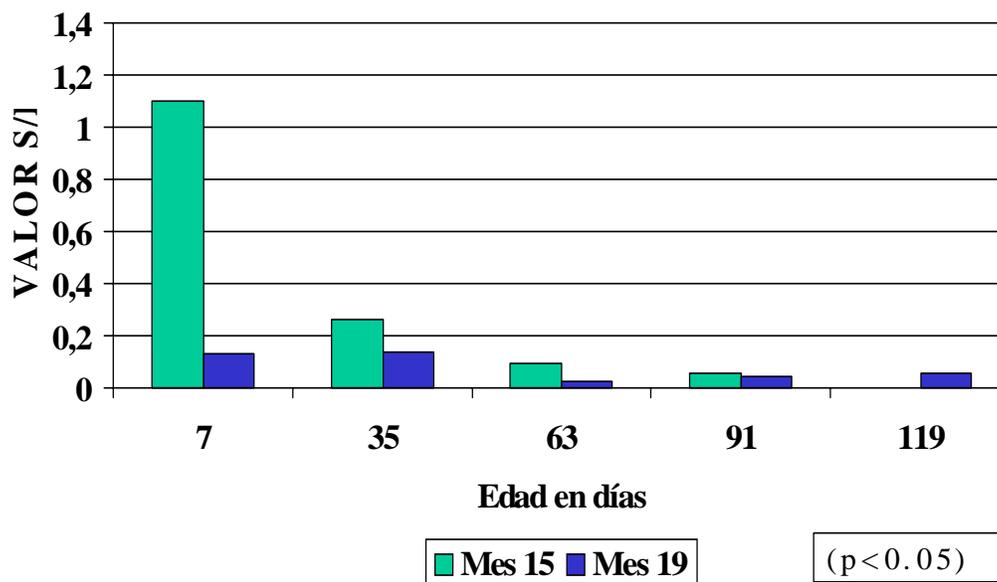
($p < 0.01$)

7.3 Introducción de animales libres de la enfermedad.

En la Gráfica 12 se observa el comportamiento serológico de las hembras libres de la enfermedad introducidas a la granja. El análisis de esta información mostró diferencia estadística ($p < 0.05$) entre los animales que entraron libres y los que entraban anteriormente. También se encontró diferencia estadística ($p < 0.05$) entre el comportamiento serológico de los animales de la línea de producción antes y después de la repoblación (Gráfica 13).



Gráfica 12. Serología de las hembras que entraron libres de la enfermedad.



Gráfica 13. Comportamiento serológico de la línea de producción después de la repoblación.

8.0 DISCUSIÓN.

8.1 Cierre de granja a la entrada de hembras de reemplazo.

Como ya se mencionó en la sección de material y método, el análisis de la información productiva y serológica determinó al hato reproductor como uno de los lugares críticos de recirculación viral a PRRS, implementándose el cierre de granja como estrategia para controlar y erradicar el virus del pío de cría.

Los resultados del presente trabajo, en el ámbito reproductivo después del cierre de la granja, sugieren un efecto benéfico sobre el comportamiento de las hembras. La mejora progresiva en el parámetro de fertilidad encontrado en este estudio, pudo deberse a que al evitar la introducción de hembras de reemplazo al área de gestación, la actividad viral fue disminuyendo con la consecuente disminución de las fallas reproductivas. Lo anterior coincide con lo reportado por Doporto *et al.* (2000) quienes refieren una mejora continua de los parámetros reproductivos, posterior a la implementación de un programa de control que disminuyó la circulación del vPRRS en el pío de cría. También concuerda con lo indicado por Dee y Joo (1997) quienes muestran los mismos resultados, con la diferencia de que este autor utiliza y recomienda la aplicación de una vacuna viva durante este proceso.

Con lo que respecta a la información serológica, cuando se compararon los 5 perfiles realizados durante el programa de erradicación, se observó que el valor promedio del segundo perfil fue menor (0.80) que el valor del primero (0.931); sin embargo, el valor del tercero fue mayor al de los dos primeros, lo cual se debió a que en este perfil el total de las hembras de la última cuarentena (100 hembras) habían sido incluidas y representaban aproximadamente el 30% de la población del pío de cría, las cuales presentaban un valor promedio del S/P de 1.52, lo cual incrementó el valor del S/P del área de gestación. A partir del tercer perfil los valores serológicos tienden a disminuir progresivamente observándose 0.938 para el cuarto y 0.614 para el quinto perfil serológico. Es importante considerar que al realizar el análisis del comportamiento

serológico, descrito anteriormente, para las hembras del pío de cría al vPRRS, no se encontró una tendencia significativa hacia la baja, lo que hacía suponer que no se había alcanzado uno de los objetivos planteados al inicio del trabajo, el cual contemplaba la negatividad clínica y sexológica; sin embargo, es importante señalar que la estrategia utilizada en este trabajo, no ofrece resultados serológicos a corto plazo, por lo que se consideró importante realizar una evaluación incluyendo únicamente la información serológica correspondiente al último año de la investigación (últimos tres perfiles) que incluyó los perfiles realizados a los 11, 15, y 19 meses después del inicio del trabajo, en donde se encontró una disminución altamente significativa de los valores serológicos al vPRRS; lo cual implica que efectivamente la estrategia empleada evitó la recirculación viral en el hato reproductor y propició la desaparición de la infección; sin embargo, la desaparición de anticuerpos detectables por ELISA es en forma gradual al través del tiempo y, aún presentes después de un año de iniciado el cierre de la granja.

Los resultados indican que el cierre de granja por ocho meses fue suficiente para eliminar el vPRRS del hato reproductor de la granja en estudio, lo cual coincide con el trabajo realizado por Batista *et al.* (2002) quienes encontraron que la persistencia y transmisión del vPRRS en poblaciones de hembras reproductoras es eliminada en menos de 120 días después de la infección. También concuerda con lo encontrado por Desrosiers y Boutin (2000) quienes tras el cierre de granja por 23 semanas no observaron seroconversión en las hembras y cerdos libres que se introdujeron.

Es importante considerar que la granja donde se realizó el presente trabajo cuenta con un inventario de 300 hembras en el área reproductiva, una población relativamente pequeña, y por lo tanto los resultados alcanzados en este trabajo deben tomarse con cierta reserva al querer aplicarlos a poblaciones mayores. Estudios futuros deberán considerar las características biológicas del virus y los posibles inconvenientes para lograr inmunidad en hatos reproductores grandes, en donde la posibilidad de la utilización de la vacuna deberá ser discutida.

8.2 Despoblación de la línea de producción.

Como se mencionó en la metodología, la segunda estrategia de la investigación consistió en despoblar las instalaciones del destete y la engorda en la granja, con el objetivo de evitar la recirculación viral en estas áreas; dicha recirculación fue determinada al analizar los datos previos de producción y serología. Por lo tanto la técnica de despoblación fue implementada para interrumpir la transmisión horizontal del virus, al evitar la entrada de lechones susceptibles a estas áreas y con ello romper el ciclo de la infección viral presente en estos sitios.

Es de destacar el efecto positivo del envío de los lechones al momento del destete a otras instalaciones (despoblación de la línea de producción), que se manifestó en una disminución progresiva de la mortalidad al paso del tiempo; lo cual pudo deberse a la desaparición de la actividad viral. Sin embargo, es importante mencionar que se realizó un análisis de la mortalidad correspondiente a los últimos siete meses del trabajo, los cuales incluyeron la fase de repoblación, dicho análisis no mostró una mejoría progresiva del parámetro de mortalidad. Lo anterior puede indicar que la técnica de despoblación ofrece resultados a corto plazo para la línea de producción, en el parámetro de mortalidad. Otro efecto positivo de la despoblación se observó en el parámetro de ganancia diaria de peso, en donde los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que animales libres del vPRRS expresan mejor su potencial productivo. Los resultados observados concuerdan con los obtenidos por Dee y Joo (1994, 1997), quienes utilizaron la despoblación para evitar la transmisión horizontal del virus en el área de destete, observando disminución de la mortalidad y mejora en la ganancia de peso. Sin embargo, en una recapitulación posterior Dee (2000b) menciona que la despoblación de los destetes tiene como objetivo principal el control de infecciones oportunistas más que el del vPRRS. También coincide con lo informado por Batista y Pijoan (2002), quienes compararon granjas convencionales contra granjas con un nivel sanitario alto, encontrando menor mortalidad y mejores ganancias de peso en estas últimas.

Las consideraciones anteriores coincidieron con el comportamiento serológico observado en este estudio, el cual indica una disminución progresiva del valor promedio del S/P, lo que sugiere la desaparición de la actividad viral, al paso del tiempo, en los animales de destete y engorda.

Lo cual concuerda con trabajos en donde se producen líneas negativas (inactivas) provenientes de hatos reproductores estables (Torremorell *et al.*, 2000).

Los resultados presentados pueden sugerir que la despoblación es una estrategia suficiente para erradicar el vPRRS en la línea de producción, lo cual debe ser tomado con reserva, siendo importante remarcar que en esta investigación la despoblación fue la segunda fase del trabajo, a la cual se llegaría siempre y cuando la primera fase resultará exitosa.

8.3 Introducción de animales libres de la enfermedad.

La última fase de la investigación consistió en introducir animales de reemplazo completamente susceptibles a la enfermedad del PRRS, los cuales deberían convivir en la granja con animales reproductores que experimentaron la infección y se recuperaron. Además se permitió la repoblación de la línea de producción con lechones hijos de estas hembras, por lo tanto se trataba de animales seropositivos al vPRRS, que no representaban riesgo de contagio ya que las hembras tuvieron el tiempo suficiente para desarrollar una inmunidad completa y, los lechones aunque presentaban inmunidad pasiva no presentaban viremia.

La seronegatividad al vPRRS observada en los muestreos realizados a los animales reproductores libres de la enfermedad que entraron al hato, sugiere que efectivamente, la presencia activa del virus al momento de su ingreso había desaparecido. Al dar por terminado el presente trabajo habían transcurrido 7 meses de introducción constante de hembras libres de la enfermedad, las cuales en sus respectivos muestreos se mantuvieron serológicamente negativas al vPRRS.

Por otro lado, la ausencia de seroconversión al vPRRS en los animales de la línea de producción confirmó la ausencia del virus en el área reproductiva; así como también indica la desaparición de actividad viral en las fases de destete y engorda. Al finalizar el tiempo para la presente investigación, transcurrieron 7 meses después de la repoblación de la línea de producción, no encontrándose seroconversión en los muestreos realizados.

Lo anterior coincide con lo reportado por Geiger (2002) quien mediante el cierre de la granja por 11 meses, aunado a la despoblación de los destetes y las engordas, logro la eliminación del vPRRS en un sistema de producción en multisitios.

9.0 CONCLUSIÓN.

La situación de la granja antes de la aplicación del programa propuesto, se consideró como estable activa (Dee, 2000a), es decir sin manifestaciones clínicas de la enfermedad en forma cíclica, aunque si recurrente, en el área de gestación, y presentación clínica cíclica en la línea de producción. Al implementar el programa, los resultados clínicos y productivos mejoraron, disminuyendo las fallas reproductivas y la mortalidad en la línea de producción, así como al aumentar la ganancia diaria de peso en los animales de venta. La disminución de los valores promedio del S/P y la ausencia de seroconversión en los animales libres de la enfermedad, demuestran la efectividad del programa de **cierre de granja a la entrada de hembras de reemplazo y despoblación de la línea de producción**, en la eliminación del vPRRS en el pío de cría y en los animales del área de destete y engorda.

Consideración final.

El éxito en los diferentes programas para la erradicación del PRRS, incluyendo el presente, pudiera de alguna forma verse afectado, ya que existen factores propios de la naturaleza del virus aún no conocidos.

El presente trabajo de investigación pretende ser un programa piloto para intentar la eliminación del vPRRS en un sistema de producción de 3800 vientres.

10.0 REFERENCIAS.

1. Albina E. Epidemiology of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS): an overview. *Veterinary Microbiology* 1997; 55: 309-316.
2. Albina E, Piriou L, Hutet E, Cariolet R, L'Hospitalier R. Immune responses in pigs infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1998; 61: 49-66.
3. Andrews JJ. Diagnostic testing-where are we going? *Proc American Association of Swine Practitioners, USA*; 2000, 455-457.
4. Batista L, Dee SA, Rossow KD, Deen J, Pijoan C. Assessing the duration of persistence and shedding of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in a large population of breeding-age gilts. *Canadian Journal Veterinary Research* 2002; 66:196-200.
5. Batista L, Pijoan C. Aclimatación de primerizas contra el virus de PRRS sin vacunación. *International Pigletter* 2000; 20: 49-51.
6. Batista L, Pijoan C. Production and economic advantages of high health production. *Proc of the 17th IPVS Congress, Iowa, USA*; 2002, 166.
7. Bierk MD, Dee SA, Rossow KD, Collins JE, Guedes MI, Pijoan C. A diagnostic investigation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus persistence in a swine breeding herd. *Proc American Association of swine practitioners, USA*; 2000, 403.
8. Bierk MD, Dee SA, Rossow KD, Collins JE, Guedes MI, Pijoan C. Diagnostic investigation of chronic porcine reproductive and respiratory syndrome virus in a breeding herd of pigs. *Veterinary record* 2001; 148: 687-690.
9. Blaha T. The colorful epidemiology of PRRS. *Veterinary Research* 2000; 31: 77-83.
10. Bosch G, Zhou C. Using nested PCR and serology to determine disease patterns in herds dually infected with PRRS and *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Proc of the 16th IPVS Congress, Melbourne, Australia*; 2000, 451.
11. Brockmeier SL, Palmer MV, Bolin SR. Effects of intranasal inoculation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, *Bordetella bronchiseptica*, or a

- combination of both organisms in pigs. *American Journal of Veterinary Research* 2000; 61: 892-899.
12. Chase C, Polson D. Sampling the Herd: when is enough? *Proc American Association of Swine Practitioners, USA*; 2000, 465-477.
 13. Christopher-Hennings J, Nelson EA, Nelson JK, Rossow KD, Shivers JL, Yaeger MJ, Chase CCL, Garduno RA, Collins JE, Benfield DA. Identification of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in semen and tissues from vasectomized and nonvasectomized boars. *Veterinary Pathology* 1998; 35: 260-267.
 14. Collins JE. Porcine reproductive and respiratory syndrome: the disease. *Proc of the 15th IPVS Congress, Birmingham, England*; 1998, 149-157.
 15. Correa P, Anaya AM, Coba MA, Weimersheimer J, Milian F, Canto JG, Fraire M. Presencia de anticuerpos contra el virus del aborto epizootico y síndrome respiratorio en cerdos importados y nacionales de varios estados de la república mexicana. *Folleto Científico no. 1 Proyecto Vigilancia Epidemiológica Junio 1995*.
 16. Dee SA. Strategies for the control and eradication of PRRS. *Memorias del XXXV Congreso AMVEC, México*; 2000a, 1-16.
 17. Dee SA. Control and eradication of porcine reproductive and respiratory syndrome. *Compendium on continuing education for the practicing veterinarian* 2000b; 22: 27-29.
 18. Dee SA, Molitor TW, Rossow KD. Epidemiological and diagnostic observations following the elimination of porcine reproductive and respiratory syndrome virus from a breeding herd of pigs by the test and removal protocol. *Veterinary record* 2000; 146: 211-213.
 19. Dee SA, Joo HS. Prevention of the spread of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in endemically infected pig herds by nursery depopulation. *Veterinary record* 1994; 135: 6-9.
 20. Dee SA, Joo HS. Strategies to control PRRS: a summary of field and research experiences. *Veterinary Microbiology* 1997; 55: 347-353.
 21. Desrosiers R, Boutin M. Eradication of the virus after a PRRS outbreak: preliminary results. *Proc of the 16th IPVS Congress, Melbourne, Australia*; 2000, 343.

22. DiGiacomo RF, Koepsell TD. Sampling for detection of infection or disease in animal populations. JAVMA 1986; 189: 22-23.
23. Diosdado VF, Socci EG, Ojeda ZP, Morilla GA. Evaluación del coeficiente S/P en animales infectados con el virus del síndrome reproductivo y respiratorio del cerdo (PRRS). Memorias del XXXIII congreso AMVEC, México; 1998, 110-111.
24. Done SH. Síndrome respiratorio y reproductivo del cerdo (PRRS). Pigs Especial; Septiembre 1995; 12-15.
25. Done SH, Spencer YI, Drew T, Gresham ACJ, Higgins RJ, Koenen F. Lymphocytic-plasmacytic myocarditis in pigs associated with PRRSV rather than EMCV. The Pig Journal 1998; 42: 43-46.
26. Doporto DJM. El Diagnóstico como una herramienta fundamental de la medicina en producción. Memorias del curso: "Actualidades en la producción porcina y en el diagnóstico de enfermedades"; México, DF; 1999, 8-12.
27. Doporto DJM, Fano AE, Trujillo OME, Mendoza GR, Carreon NR. Evaluation of a PRRS diagnosis and control program at a three site pig farm in México. Proc of the 16th IPVS Congress, Melbourne, Australia; 2000, 344.
28. Drew TW. A review of evidence for immunosuppression due to porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Veterinary Research 2000; 31: 27-39.
29. Erickson G. Respiratory disease diagnosis. Proc American Association of Swine Practitioners; 2000, 479-482.
30. Geiger JO. PRRS virus elimination in a 5000 sow multi-site system. Proc of the 17th IPVS Congress, Iowa, USA; 2002, 120.
31. Galina L, Pijoan C, Sitjar M, Christianson WT, Rossow K, Collins JE. Interaction between *Streptococcus suis* serotype 2 and porcine reproductive and respiratory syndrome virus in specific pathogen-free piglets. Veterinary Record 1994; 134: 60-64.
32. Goldberg TL, Weigel RM, Hahn EC, Scherba G. Associations between genetics, farm characteristics and clinical disease in field outbreaks of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Preventive Veterinary Medicine 2000; 43: 293-302
33. Kerkaert BR, Pijoan C, Dial G. Financial impact of chronic PRRS. Proc Allen D Lemay Swine Conference; 1994, 217-218.

34. Lager KM, Butler JE. Midgestation fetal PRRSV infection did not induce an immunotolerant state. Proc of the 17th IPVS Congress, Iowa, USA; 2002, 113.
35. Lager KM, Mengeling WL. PRRS: nature of the RNA virus and how it causes disease. Proc of the 16th IPVS Congress, Melbourne, Australia; 2000, 538-543.
36. Lager KM, Mengeling WL, Brockmeier SL. Duration of homologous porcine reproductive and respiratory syndrome virus immunity in pregnant swine. *Veterinary Microbiology* 1997; 58:127-133.
37. Lager KM, Mengeling WL, Brockmeier SL. Evaluation of protective immunity in gilts inoculated with the NADC-8 isolate of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and challenge-exposed with an antigenically distinct PRRSV isolate. *American Journal Veterinary Research* 1999; 60: 1022-1027.
38. López FL, Doménech N, Alvarez B, Ezquerro A, Domínguez J, Castro JM, Alonso F. Analysis of cellular immune response in pigs recovered from porcine respiratory and reproductive syndrome infection. *Virus Research* 1999; 64: 33-42.
39. McCaw MB. Impact of McRebel (minimal cross-fostering) management upon nursery pig sale weight and survival under production conditions in PRRS asymptomatic herds. Proc of the 16th IPVS Congress, Melbourne, Australia; 2000, 333.
40. Meng XJ. Heterogeneity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus: implications for current vaccine efficacy and future vaccine development. *Veterinary Microbiology* 2000; 74: 309-329.
41. Mengeling WL, Lager KM. A brief review of procedures and potential problems associated with the diagnosis of porcine reproductive and respiratory syndrome. *Veterinary Research* 2000; 31: 61-69.
42. Mengeling WL, Lager KM, Vorwald AC. Clinical consequences of exposing pregnant gilts to strains of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus isolated from field cases of "atypical" PRRS. *American Journal Veterinary Research* 1998; 59: 1540-1544.
43. Meredith MJ. Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS). Boehringer Ingelheim, 1995.

44. Meulemberg JJM. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSv), molecular characterization of the agent. Proc of the 15th IPVS Congress, Birmingham, England; 1998, 143-147.
45. Meulemberg JJM. PRRSV, the virus. *Veterinary Research* 2000; 31: 11-21.
46. Nodelijk G, Jong MCM, Leengoed LAMG, Wensvoort G, Pol JMA, Steverink PJGM, Verheijden JHM. A quantitative assessment of the effectiveness of PRRSV vaccination in pigs under experimental conditions. *Vaccine* 2001; 19: 3636-3644.
47. Ontanu Gh. Mandescu M. The economical effect of porcine reproductive respiratory syndrome-porcine respiratory diseases complex related outbreak in a pig unit. Proc of the 16th IPVS Congress, Melbourne, Australia; 2000, 154.
48. Osorio FA. Porcine reproductive and respiratory syndrome. Proc of the 17th IPVS Congress, Iowa, USA; 2002.
49. Pejsak Z, Stadejek T, Markowska-Daniel I. Clinical signs and economic losses caused by porcine reproductive and respiratory syndrome virus in a large breeding farm. *Veterinary microbiology* 1997; 55: 317-322.
50. Polson D. Effective PRRS control: what the Americans are doing wrong and right. *The pig journal-proceedings*; 2000, 110-129.
51. Polson D, Jordan D, Johnston D, Holck JT, Beekhuizen J, Catlett K. Evaluating the beneficial performance and financial effects of pig vaccination with ingelvac PRRS MLV in a PRRS-positive multi-site production system. Proc of the 16th IPVS Congress, Melbourne, Australia; 2000, 152.
52. Prieto C, Castro JM. Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in gestating sows. *Veterinary Research* 2000; 31: 56-57.
53. Prieto C, Suárez P, Simarro I, García C, Martín-Rillo S, Castro JM. Insemination of susceptible and preimmunized gilts with boar semen containing porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Theriogenology* 1997; 47: 647-654.
54. Reeth KV. Pathogenesis and clinical aspects of a respiratory porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Veterinary Microbiology* 1997; 55: 223-230.
55. Reeth KV, Nauwynck H, Pensaert M. Clinical effects of experimental dual infections with porcine reproductive and respiratory syndrome virus followed by swine influenza virus in conventional and colostrums-deprived pigs. *J Vet Med B* 2001; 48: 283-292.

56. Rodríguez MJ, Sarraseca J, Fominaya J, Cortés E, Sanz A, Casal JI. Identification of an immunodominant epitope in the c terminus of glycoprotein 5 of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Journal of General Virology* 2001; 82: 995-999.
57. Segalés J, Domingo M. Lesiones asociadas a la infección por el virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRS). *Med Vet* 1998; 15: 3.
58. Solano GI, Segales J, Collins JE, Molitor TW, Pijoan C. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) interaction with *Haemophilus parasuis*. *Veterinary Microbiology* 1997; 55: 247-257.
59. Spagnuolo-Weaver M, Walker IW, Mc Neilly F, Calvert V, Graham D, Burns K, Adair GM, Allan GM. The reverse transcriptase polymerase chain reaction for the diagnosis of porcine reproductive and respiratory syndrome: Comparison with virus isolation and serology. *Veterinary Microbiology* 1998; 62: 207-215.
60. Spagnuolo-Weaver M, Walker IW, Campbell ST, Mc Neilly F, Adair BM, Allan GM. Rapid detection of porcine reproductive and respiratory syndrome viral nucleic acid in blood using a fluorimeter based PCR method. *Veterinary Microbiology* 2000; 76: 15-23.
61. Stephano A. Medidas para el control y eliminación del síndrome reproductivo y respiratorio porcino. *Memorias de 4to seminario internacional: complejo respiratorio porcino...nuevos desafíos*, Guadalajara, México; 2000, 55-63.
62. Suárez P. Ultrastructural pathogenesis of the PRRS virus. *Veterinary Research* 2000; 31: 47-55.
63. Sur JH, Doster AR, Osorio FA. Apoptosis induced in vivo during acute infection by porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Veterinary Pathology* 1998; 35: 506-514.
64. Sur JH, Doster AR, Galeota JA, Osorio FA. Evidence for the localization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) antigen and RNA in ovarian follicles in gilts. *Veterinary Pathology* 2001; 38: 58-66.
65. Sur JH, Doster AR, Galeota JA, Wills RW, Osorio FA. PRRSV: Study of in vivo cell tropism and virus-induced apoptosis by in situ detection techniques. *Veterinary Research* 2000; 31:58-59.

66. Teifke JP, Dauber M, Fichtner D, Lenk M, Polster U, Weiland E, Beyer J. Detection of european porcine reproductive and respiratory syndrome virus in porcine alveolar macrophages by two-colour immunofluorescence and in-situ hibridization-immunohistochemistry double labelling. *J Comp Path* 2001; 124: 238-245.
67. Thacker EL, Thacker BJ, Young TF, Albur PG. Effect of vaccination on the potentiation of porcine reproductive and respiratory síndrome virus (PRRSV)-induced pneumonia by *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Vaccine* 2000; 18: 1244-1252.
68. Thomson JR, Williams RA, Dick JD. Current and future PCR diagnostic technology for pig diseases. *The Pig Journal* 2000; 46: 142-149.
69. Torremorell M, Baker R. Eradication of PRRS virus by changing the pig flow and the introduction negative replacements into positive sow farms. *Proc Allen D Lemman Swine Conference*; 2000.
70. Torremorell M, Henry S, Moore C. Producing PRRSv negative herds and systems from PRRSv positive animals: the Principles, the Process and the Achievement. *Proc American Association of Swine Practitoners*; 2000, 341-347.
71. Wills RW, Doster AR, Galeota JA, Sur JH, Osorio FA. Duration of infection and proportion of pigs persistently infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 58-62.
72. Wills RW, Gray JT, Fedorka-Cray PJ, Yoon KJ, Ladely S, Zimmerman JJ. Synergism between porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and *Salmonella choleraesuis* in swine. *Veterinary Microbiology* 2000; 71: 177-192.
73. Wills RW, Osorio FA, Doster AR. Susceptibility of selected non-swine species to infection with PRRS virus. *Proc American Association of Swine Practitoners*; 2000, 411-413.
74. Yoon K. Porcine reproductive and respiratory syndrome: virology. *Memorias del symposium internacional sobre enfermedades emergentes del cerdo*; Irapuato, México, 2000.
75. Zimmerman JJ, Yoon KJ, Wills RW, Swenson SL. General overview of PRRSV: a perspective from the United States. *Veterinary Microbiology* 1997; 55: 187-196.