



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**CONTROL Y ERRADICACION DE LA ENFERMEDAD
DE AUJESZKY EN UN SISTEMA MULTIPLE DE
TRES SITIOS DE PRODUCCION**

T E S I S
Que para obtener el Grado de
MAESTRO EN PRODUCCION ANIMAL: CERDOS

p r e s e n t a

ANGELICA MARIA VARGAS

Asesores: MVZ MSc. José Miguel Doporto Díaz
MVZ MPA. María Elena Trujillo Ortega
MVZ MSc. Humberto Ramírez Mendoza



TESIS CON

MARZO DE 1996



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.

INDICE

TEMAS	PAGINAS
Resumen	1
I Introducción	4
II Revisión de literatura	9
Aspectos epidemiológicos	
a) Características de VEA	9
a.1) Función de las glicoproteínas en la virulencia del VEA	9
a.2) Función de la glicoproteínas en la inmunogenicidad	11
b) Cepas virales	11
c) Permanencia del VEA fuera del hospedero	12
d) Latencia	14
e) Transmisión del VEA	16
f) Excreción y replicación del VEA	17
g) Especies afectadas	18
h) Inmunidad	19
Diagnóstico	22
Vacunas y vacunación	29
Control y erradicación	34
Métodos de eliminación del VEA	
a) Despoblación - Repoblación	35
b) Prueba y eliminación	36
c) Manejo / vacunación	37
d) Segregación de los descendientes	38
d.1) Destete Medicado Temprano (MEW)	40
d.2) Destete Medicado Temprano Modificado (MMEW)	41
d.3) Tres sitios múltiples de producción (ISOWEAN®)*	39
III Justificación	49
IV Objetivos	50
V Hipótesis	50

*ISOWEAN es una marca registrada por Pic Improvement Company.

VI Material y métodos	51
a) Características de los sitios	51
b) Animales experimentales	53
c) Antecedentes de la granja	54
d) Muestras de envío	56
e) Técnicas serológicas utilizadas	56
f) Muestreos	60
VII Resultados	62
VIII Discusión y conclusiones	64
IX Literatura citada	70
X Cuadros y Figuras	82

INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

	PAGINAS
Cuadro 1. Función de las glicoproteínas en la virulencia del virus de la enfermedad de Aujeszky (VEA)	83
Cuadro 2. Virulencia de algunas cepas atenuadas del virus de la enfermedad de Aujeszky (VEA)	84
Cuadro 3. Técnicas de diagnóstico para el virus de la enfermedad de Aujeszky (VEA)	85
Cuadro 4. Principales técnicas serológicas para el diagnóstico del virus de la enfermedad de Aujeszky y sus ventajas.	86
Cuadro 5. Destete Medicado Temprano (MEW)	87
Cuadro 6. Edad de destete recomendado para la eliminación de diferentes microorganismos infecciosos en cerdos	88
Cuadro 7. Destete Medicado Temprano Modificado (MMEW)	89
Cuadro 8. Un sitio de producción clásico	90
Cuadro 9. Dos Sitios de producción aislados(Isowean®) 91	
Cuadro 10. Tres sitios de producción aislados (Isowean®)	92
Cuadro 11. Sitios múltiples de producción (Isowean®)	93

Cuadro 12.	Efecto del uso de tres sitios de producción en la productividad de la hembra	94
Cuadro 13.	Peso promedio (kg) de lechones de la misma camada destetados a 21 días de edad por Isowean®	95
Cuadro 14.	Seropositividad al momento del brote de la enfermedad de Aujeszky mediante la técnica de Seroneutralización en los tres sitios	96
Cuadro 15.	Seropositividad por sitio después del brote de la enfermedad de Aujeszky	97
Cuadro 16.	Seropositividad por muestreo de animales de pie de cria mediante la técnica de Seroneutralización (SN) antes y después del brote ocurrido en el sitio 1	98
Cuadro 17.	Seropositividad por muestreo de animales centinelas y de línea mediante la técnica de Seroneutralización (SN) y ELISA competitiva gl+ en el sitio 2	99
Cuadro 18.	Seropositividad por muestreo de animales centinelas y de línea mediante la técnica de Seroneutralización (SN) en el sitio 3	100
Figura 1.	Muestreos realizados y porcentaje de animales con anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Aujeszky (VEA) en el sitio 1	101
Figura 2.	Muestreos realizados y porcentaje de animales con anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Aujeszky (VEA) en el sitio 2	102
Figura 3.	Muestreos realizados y porcentaje de animales con anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Aujeszky (VEA) en el sitio 3	103

AGRADECIMIENTOS

La autora agradece a todas las personas que hicieron posible la realización de este trabajo en particular a:

Sr. Manuel Romo Muñoz

Sr. Roberto Romo Muñoz

Sr. Manuel Romo Ruiz

MVZ. Alfredo Becerra

de la Multiplicadora PROAN S.A de C.V.

Al Dr. José Miguel Doporto Díaz por depositar su confianza en mí así como por sus consejos y experiencias transmitidas.

A la Dra. María Elena Trujillo Ortega por su confianza y apoyo gracias.

Al Departamento de Producción Animal: cerdos en especial a la MVZ Rosalba Carreón Nápoles por permitirme permanecer en el laboratorio de virología, con el objetivo de enriquecer mis conocimientos en el diagnóstico de las enfermedades de los cerdos.

A Alberto y a mi hijo Leopoldo por ser los insentivos más fuertes en mi vida y por ser mis compañeros al compartir los momentos más críticos y hermosos que he tenido hasta este momento, por apoyarme en todo. A ellos dedico este trabajo.

RESUMEN

Vargas Angélica María. Control y erradicación de la Enfermedad de Aujeszky en un sistema múltiple de tres sitios de producción (Bajo la dirección de José Miguel Doporto Díaz, María Elena Trujillo Ortega y Humberto Ramírez Mendoza).

El objetivo del presente trabajo fue controlar y erradicar la Enfermedad de Aujeszky (EA) en un sistema múltiple de tres sitios de producción por medio de la vacunación del hato reproductor contra la EA, la segregación de la descendencia y hacer una valoración lineal epidemiológica de los tres sitios de producción mediante el uso de animales centinelas libres de la EA.

El brote se inició en el sistema en el mes de junio de 1993. En el sitio 1 clínicamente se observaron hembras con repeticiones y abortos, así como elevación de la mortalidad de lechones con signos nerviosos, en el sitio 2 aumentó la mortalidad de lechones y aparecieron infecciones secundarias bacterianas, donde se aisló *Salmonella* y *Streptococcus suis*; y en el sitio 3 los animales presentaron problemas respiratorios. El brote fue confirmado a través del diagnóstico por pruebas de inmunofluorescencia e histopatología en la cual se encontró encefalitis no supurativa difusa. Al efectuarse las pruebas serológicas de Seroneutralización (SN) y ELISA competitiva gl+ se encontró que el 100 % de los animales en los sitios 1 y 2 fueron seropositivos, mientras que en el sitio 3 la seropositividad fue de 89.65 %. Por lo que la seropositividad en los tres sitios fue del 93.67 % de las muestras totales tomadas (1389) en todo el sistema.

Al hato reproductor se le medicó vía alimento con antibióticos para cubrir problemas secundarios, tanto entéricos como respiratorios; también se le inmunizó con una vacuna de virus inactivado con delección gl (-) contra el virus de la enfermedad de Aujeszky (VEA) al momento del brote, repitiéndose ésta a los 21 días después. Posteriormente se mantuvo la vacunación de todo el hato reproductor durante un año cada 3 meses, para después vacunarlos cada 4 meses, para controlar y evitar en lo posible la replicación del VEA.

Se introdujeron animales de reemplazo en el sitio 1 para mantener la granja cerrada por un período de 6 meses y favorecer el control y eliminación del VEA.

El método de control de la descendencia consistió en desviar la producción del pie de cría a una granja ajena al sistema, para controlar el brote e iniciar la erradicación de la EA. Una vez que desaparecieron los signos clínicos de la enfermedad se inició nuevamente la población de los sitios 2. El destete se realizó a los 18 días de edad, edad a la cual se segregaron los lechones al sitio 2, donde al mismo tiempo se hizo la introducción de animales centinelas libres del VEA para determinar si había replicación del virus en la línea.

Para la erradicación de la EA se realizaron muestreos serológicos por sitio a diferentes intervalos, a animales centinelas y a animales de línea.

En el sitio 1 se hizo un total de 4 muestreos del mes de junio de 1993 al mes de mayo de 1994. Cada muestreo con un total de 10 a 14 muestras de suero, haciendo un total de 44 muestras, las cuales fueron trabajadas por la técnica de Seroneutralización (SN) y se observó que desde el primer muestreo tomado en el mes del brote, se tuvo un 100 por ciento de seropositividad.

En el sitio 2 localizado aproximadamente a 15 kilómetros de distancia del Sitio 1, se envían los lechones de 5.2 kg promedio hasta alcanzar un peso de 30 kg, con un tiempo de permanencia de 12 semanas. Se realizaron 6 muestreos serológicos mensuales a animales centinelas y de línea, haciendo un total de 119 muestras las cuales se trabajaron mediante las técnicas de SN y ELISA competitiva gl+. En la mayoría de los muestreos serológicos se obtuvo un 0 % de seropositividad, excepto en uno realizado, en el mes de octubre de 1993, a animales de línea de 8 a 9 semanas de edad, los cuales presentaron un 100 % de seropositividad contra el VEA, por las técnicas de SN y ELISA gl, pero dichos anticuerpos provenían de la inmunidad pasiva dada por las madres. En el último muestreo realizado en el mes de diciembre de 1993, también se presentó una muestra positiva al VEA por la técnica de ELISA competitiva gl+ la cual representó un 0.84 % de seropositividad en el sitio, pero la misma muestra resultó negativa por la técnica de SN por lo que se consideró como muestra negativa y por lo tanto

la seroprevalencia permaneció en 0 %. Entre ambas técnicas de diagnóstico no se encontró diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) por la prueba de ji-cuadrada.

En el sitio 3 localizado aproximadamente a 15 km del Sitio 2 y a 15 km del sitio 1 se alojan a los animales de 30 kg de peso promedio hasta alcanzar el peso al mercado (165 días). En este sitio se realizaron 6 muestreos totales, 4 de estos fueron realizados en animales centinelas haciendo un total de 179 muestras de suero trabajadas por la técnica de SN siendo negativas; los otros 2 muestreos fueron realizados en animales de línea, estos muestreos consistieron en 530 muestras para el primero, llevado a cabo en el mes de marzo de 1994, y a 517 muestras para el segundo, realizado en el mes de septiembre de 1994, haciendo un total de 1047 muestras. Dichas muestras fueron trabajadas mediante la técnica de ELISA competitiva gl+ en laboratorios de diagnóstico aprobados por la Secretaria de Agricultura Ganaderia y Desarrollo Rural (SAGAR) para el apoyo a la Campaña Nacional contra la EA obteniéndose 0 % de seropositividad.

En total en el sitio 3 se obtuvieron 1226 muestras de las cuales ninguna resultó positiva a la presencia de anticuerpos contra el VEA.

En conclusión se tiene que los métodos aplicados en el sitio 1 (vacunación, medicación, cerrar la entrada de animales al sitio por un tiempo y la segregación de la descendencia) fueron efectivos para controlar y erradicar la enfermedad de Aujeszky en el sistema, ya que desde que se inicio el programa no se presentó un solo caso de la enfermedad en los sitios 2 y 3 del sistema, como tampoco se observaron signos clínicos de la EA en el sitio 1.

I INTRODUCCION

La Enfermedad de Aujeszky (EA) fue descrita por primera vez en los Estados Unidos de Norteamérica en 1813, en el ganado vacuno. El término de pseudorrabia fue utilizado por primera vez en Suiza en 1849 debido a que los signos clínicos en el ganado eran similares a los de la rabia. En 1902 Aujeszky estableció al agente causal como no bacteriano y subsecuentemente en 1910 Schmiedhofer confirmó que era viral. En 1934 Sabin y Wright identificaron que el virus estaba relacionando inmunológicamente a los virus de Herpes simple y Herpes B (44,46).

Presenta una distribución mundial; pues se encuentra en la mayoría de los países de Europa; está muy difundida en América (México, Estados Unidos de Norteamérica, Cuba, Guatemala, Venezuela, Brasil y Argentina). También se ha señalado su presencia en Africa, Asia y en Oceanía (13).

La EA fue identificada en México en 1945 por Batchold, en bovinos localizados en Aguascalientes, posteriormente Ramírez Valenzuela y Téllez Girón observaron algunos casos en la misma especie en el estado de Guanajuato (León, Guanajuato) (3,5,46).

En cerdos el primer caso informado fue en la Piedad, Michoacán en 1969 por Martell y cols., mismos que realizaron en 1970 el aislamiento y la identificación serológica del virus de la Enfermedad de Aujeszky (VEA) de un brote en bovinos de Arcelia Gro., que habían estado en contacto con cerdos importados. La presencia del VEA se confirmó mediante la prueba de anticuerpos fluorescentes. Es así como a partir de la década de los setentas comienzan a aparecer casos de la EA en explotaciones porcinas principalmente en el centro del país donde existe una alta concentración de cerdos (13,15,46,68).

La EA es producida por el *Herpesvirus suis* 1, es una enfermedad altamente contagiosa que se caracteriza por la presencia de signos nerviosos y respiratorios asociados con un aumento de la temperatura y muerte de animales

jóvenes. La infección en animales adultos puede ser inaparente o estar asociada con la presencia de lechones nacidos muertos o de abortos (26,51,77,87).

Los signos clínicos que se presentan dependen primariamente de la "cepa" del virus, de la dosis infectante y de mayor importancia aún de la edad de los cerdos afectados así como su estado inmunitario. El virus tiene predilección por el tejido respiratorio y nervioso, por lo que la mayoría de los signos clínicos son asociados con alteración de estos dos sistemas. Generalmente, los signos nerviosos son más aparentes en los cerdos lactantes o destetados, mientras que los signos respiratorios se observan en los cerdos en finalización y en los adultos (44,88).

En una granja de ciclo completo los signos que se observan varían dependiendo de los animales afectados primero por el VEA. Típicamente, los primeros signos clínicos son anorexia, fiebre y abortos en las cerdas adultas o jóvenes; o cerdos en finalización que tosen y comienzan a estar desgastados y anoréxicos; o cerdos lactantes que presentan pelo reseco, anoréxicos y en 24 horas hay ataxia y convulsiones (19,44).

La presentación de signos clínicos es mayor entre menos edad tengan los animales; en los lechones de 2 semanas de edad existe mayor probabilidad de que se presenten los signos, por lo que en estos la morbilidad y mortalidad son del 100 %; lechones de 3 ó 4 semanas de edad presentan una morbilidad de 80 % y una mortalidad de 40 - 60 %; cerdos en crecimiento y engorda son aún menos sensibles con morbilidad de 10 - 20 % y mortalidad del 5 al 10 %. Los animales del pie de cría son menos propensos a padecer la enfermedad, pero cuando se infectan, los efectos se ven en la pérdida embrionaria, mortalidad de fetos y por consiguiente el aumento de cerdos momificados y nacidos muertos. Además estos pueden quedar como portadores sanos hasta por seis meses sin padecer la enfermedad pero sí diseminando el virus (47, 90).

La respuesta hacia la infección viral dentro de la granja puede ser diferente. La enfermedad se puede manifestar diseminándose rápidamente y afectando a los cerdos de todas las edades en la granja, o puede ser una

infección inaparente cuando los animales de la granja están vacunados y se detecta sólo cuando se hace una evaluación serológica. La EA es inaparente (con más frecuencia) cuando la infección ocurre mientras no hay cerdos recién nacidos. Cuando el VEA se introduce en una granja por primera vez, rara vez sucede la infección inaparente debido principalmente a la presencia de cerdos recién nacidos, los cuales a esta edad son altamente susceptibles a la enfermedad (13,44,63).

La infección se efectúa por ingestión ó inhalación, por vía nasal u oral, el virus se establece en la nasofaringe donde inicia su replicación. A partir de la nasofaringe el virus puede seguir tres vías:

1.- Nerviosa: el virus, a través de los axones pasa a los nervios craneales principalmente el olfatorio (I), trigémino (V), glossofaríngeo (IX) e hipogloso (XII), llegando así al puente de Varolio, médula oblonga y lóbulos olfatorios, todo esto en un lapso de 24 horas aproximadamente. La lesión inicial en las tonsilas puede ser desde congestión hasta clara necrosis.

2.- Respiratoria: el virus al replicarse en mucosa nasal y faríngea, por acción mecánica del aire, pasa a la tráquea y llega a los alveolos, donde también inicia su replicación; muchas veces esto favorece la proliferación de bacterias, principalmente *Pasteurella*, provocando graves neumonías bacterianas, esto sucede en un lapso de 24 a 72 horas.

3.- Linfática: el virus pasa a ganglios retrofaríngeos y por el conducto torácico alcanza el torrente sanguíneo, de donde se disemina a varios órganos, principalmente el bazo, hígado y útero. En el bazo e hígado produce pequeños focos de necrosis, en el útero atraviesa la barrera placentaria infectando a los embriones o fetos provocando su muerte, reabsorciones, momificaciones, abortos, mortinatos o lechones anormales. Esto sucede en un lapso de 3 a 6 días (13,19,47,63,91).

La excreción del VEA coincide con la aparición de la enfermedad clínica, o con una infección inaparente y la excreción de éste comienza después de un período de incubación de 2-5 días (44,47).

El mecanismo de defensa contra el VEA es uno de los que involucra tanto a la respuesta de tipo humoral como a la celular como se ha demostrado en las pruebas de inhibición y migración de macrófagos y migración de leucocitos (26,37).

El diagnóstico de la EA generalmente se hace usando una combinación de elementos como son: historia del hato, signos clínicos, lesiones microscópicas y macroscópicas, serología, detección del antígeno viral y aislamiento del virus. Así mismo el diagnóstico rápido y certero de infecciones por VEA es fundamental para el control y erradicación de la enfermedad (44,62).

En la actualidad existen métodos que garantizan con éxito la campaña de erradicación de la EA. Entre dichos métodos se encuentran: 1) prueba y eliminación, 2) despoblación - repoblación, 3) manejo / vacunación, 4) segregación de los descendientes : 4.1) destete medicado temprano (MEW), 4.2) destete medicado temprano modificado (MMEW) y 4.3) tres sitios y múltiples sitios de producción (ISOWEAN ®) (2,57,91).

Aunado a esto se cuenta también con los inmunoensayos de ejecución rápida y las vacunas diferenciales que son compatibles con su aplicación en una campaña de erradicación. Tales vacunas y sus respectivos "kits" diagnósticos permiten el uso de programas de vacunación sin penalizaciones (41,61).

De entre las enfermedades que afectan al cerdo en nuestro país, la EA ocupa una posición importante por producir efectos económicos considerables. pues forma parte de uno de los padecimientos de origen viral que más daño causa a la porcicultura nacional (16, 87).

Los sistemas de producción, la movilización y comercialización, las limitaciones en el diagnóstico y la falta de notificación de los casos ocurridos han

favorecido la difusión de la EA en las principales cuencas porcícolas del país. No obstante el sinnúmero de estudios realizados sobre esta enfermedad a nivel mundial, algunos de sus aspectos epidemiológicos aún no han sido esclarecidos (70).

Por lo anterior, debido al alto riesgo que tiene el VEA de infectar rápidamente tanto a animales de la misma granja, como a los de otras granjas, y a la elevada mortalidad que causa, sobretodo en los más pequeños, lo cual se traduce en importantes pérdidas económicas, se establecieron los siguientes objetivos:

1) Por medio de la vacunación (vacuna G1 (-)) del pie de cría contra la EA y la segregación de la descendencia, se pretende controlar y erradicar dicha enfermedad en un sistema múltiple de tres sitios de producción.

2) Hacer una valoración lineal epidemiológica de los 3 sitios de producción, por medio de animales centinelas libres de la EA.

II REVISION DE LITERATURA

CARACTERISTICAS DEL VEA

El *Herpesvirus suis 1* de la EA pertenece a la familia *Herpesviridae*, subfamilia *Alphaherpesvirinae* la cual tiene como características una gama variable de hospedadores y son altamente citopáticos, su ciclo de replicación es corto y a menudo producen infección latente en ganglios nerviosos. Serológicamente se conoce solamente un tipo (21,40,55,56).

El VEA consiste de una nucleocápside envuelta que rodea a un genoma lineal de alrededor de 150 kilobases de ADN. La dimensión total del virus varía de 150 a 180 nm de diámetro (12,22). Su genoma consiste básicamente de 4 partes, una región única larga (UL), una región única corta (Us) y dos regiones conocidas como secuencias repetidas (Ir)(26,38,87).

Codifica una gran cantidad de glicoproteínas que pueden ser clasificadas en glicoproteínas esenciales (aquellas que son indispensables para la infectividad del virión) tales como: gII, gp50, gH y gL y glicoproteínas no esenciales (aquellas que son esenciales para la replicación del virus en cultivo celular) tales como: gIII, gI, gp63 y gX (40,87,92) (Cuadro 1).

La virulencia del VEA es controlada por varios genes localizados en el genoma del virus y al parecer los más importantes son los que codifican para las glicoproteínas gI, gIII, gp63 y la enzima timidina kinasa (TK), dichas glicoproteínas están localizadas en la envoltura del VEA (92,57).

FUNCIONES DE LAS GLICOPROTEINAS EN LA VIRULENCIA DEL VEA

gIII.- Esta glicoproteína interactúa con la superficie celular mediante una proteína ligadora para establecer la primera unión del VEA con la célula blanco,

permitiendo la penetración del virus a la célula, interviene también en la liberación del virus a partir de células infectadas.

gp50.- Reconoce un segundo receptor celular y es absolutamente necesaria para la penetración del virus y es indispensable para la diseminación del virus de célula a célula.

gII, gp50, gH y gL.- Son esenciales para el proceso de fusión entre la envoltura y la membrana citoplasmática celular, lo cual permite la entrada de la nucleocápside viral a la célula blanco, por otro lado se tiene que la gII también juega un papel importante desde el punto de vista inmunológico, dado que la mayoría de los anticuerpos se dirigen precisamente contra ella.

gI.- No es esencial para la replicación del VEA en cultivo celular, pero es importante para la expresión de la virulencia, también juega un papel importante en el tropismo hacia los tejidos y facilita la difusión del VEA hacia el cerebro, está también involucrada en la liberación del virus a partir de las células infectadas. Se expresa tanto en la envoltura del VEA como en la membrana de las células infectadas.

gX.- Glicoproteína no esencial que es secretada por las células infectadas. Se expresa como un precursor ligado a la célula que requiere una separación proteolítica para convertirse en una proteína extracelular, se sabe que es antigénica y relativamente abundante en forma libre en el medio de cultivo donde se mantienen las células en las que se replica el virus.

Enzima Timidina Kinasa (TK) .- Esta enzima facilita la infección de las neuronas permitiendo la replicación viral. Es importante para la expresión de la virulencia, así como gI y gII. La ausencia de ella disminuye dramáticamente la virulencia del VEA sin afectar la replicación viral en cultivos celulares.

Los genes que codifican para muchas de las proteínas mencionadas no son esenciales para la replicación viral por lo que algunas cepas vacunales del VEA han sido diseñadas genéticamente para que sean deficientes en una o más

de las siguientes proteínas gI, gIII, gX y la enzima timidina kinasa (TK) (50,51,52,87,92).

La ausencia de estas glicoproteínas las hace útiles como marcadores inmunológicos negativos y se han utilizado en pruebas serológicas diseñadas para identificar animales vacunados de aquellos infectados con el VEA de campo (87,57).

Sin embargo los virus con delección de alguna de estas glicoproteínas liberan virus de células infectadas menos frecuentemente, lo cual podría explicar su reducida virulencia (87).

FUNCION DE LAS GLICOPROTEINAS EN LA INMUNOGENICIDAD

Las glicoproteínas gII, gIII y gp50 han sido identificadas como antígenos blanco para anticuerpos neutralizantes y para células T citotóxicas, también hay producción de anticuerpos contra gI y gX (2,6,43,87).

Anticuerpos monoclonales (AMc) dirigidos contra gII, gIII y gp50 pueden neutralizar al VEA in vitro con o sin complemento, mientras que AMc contra gI requieren complemento para neutralizar al virus. Además contiene epitopes que son reconocidos por células T ayudantes aunque parece que los cerdos pueden ser completamente protegidos contra el VEA al administrarles una vacuna gI negativa, lo cual indica que dicha glicoproteína puede ser indispensable para la inducción de inmunidad completa para esta especie (43,64,87).

"CEPAS" VIRALES

Se ha comprobado que existen diferentes "cepas" del VEA y que existe solamente un serotipo. La diversidad de "cepas" ha sido comprobada tanto in vivo como por métodos de laboratorio; por ejemplo, en Irlanda del Norte se han aislado 5 "cepas" virales, las cuales difieren en virulencia. La "cepa" NIA - 1 es neurotrópica y mata del 5 - 20 % de cerdos de 7 semanas de edad. La "cepa" NIA

- 2 provoca una mortalidad similar pero ésta causa severa enfermedad respiratoria en los cerdos. La "cepa" NIA - 3 causa un 80 - 100 % de mortalidad en cerdos de 7 semanas y arriba del 20 % de mortalidad en cerdos de 14 a 20 semanas de edad. La "cepa" NIA - 4 no es patógena para cerdos y por ello es utilizada para la elaboración de vacunas con virus "activo". La "cepa" NIA - 6 no causa enfermedad en lechones de 4 semanas sin embargo si causa mortalidad en los de 2 semanas de edad (56,91).

Iglesias (37) informó de dos "cepas" del VEA las cuales mostraban diferente comportamiento en cultivo celular denominadas S (con formación de sinsitios) y R (con células redondeadas); que al ser inoculadas en cerdos estos tuvieron manifestaciones diferentes, pues aquellos desafiados con la cepa S mostraron una enfermedad aguda con la mayoría de los signos clínicos característicos y morían por la infección, mientras que los animales desafiados con la cepa R no mostraban signos clínicos claros de la enfermedad y no hubo mortalidad.

Existen además "cepas" del VEA que no sólo infectan a cerdos, si no que también a otras especies animales (Cuadro 2).

PERMANENCIA DEL VEA FUERA DEL HOSPEDERO

Beran (10) al realizar diferentes estudios para conocer la resistencia del VEA fuera del animal encontró que la permanencia de éste en fomites sólidos y líquidos es diferente.

Fomites sólidos: acero 18 días (d), concreto 4d, plástico 8d, caucho 7d, pasto verde 2d, ropa de algodón < 1d, suelo 7d, maíz 36d, alimento peletizado 3d, carne 5d, heno de alfalfa < 1d, cama de paja 4d, aserrín 2d y heces 2d. *Fomites líquidos:* agua de manantial 7d, agua clorada 2d, orina de cerdo 14d, agua de pozo < 1d y laguna anaeróbica 2d.

En la mosca doméstica el virus fue recuperado por más de 7 días. En palomas y estorninos el VEA no pudo ser recuperado aún cuando se intentó recuperarlo lo más pronto posible después de la infección. En aerosoles, la vida media del VEA decayó logarítmicamente de 17.4 a 36.1 minutos a 22 C y de 27.3 a 43.6 minutos a 4 C con tiempos de permanencia más larga a 55 % de humedad relativa que a 25 ó 85 % (10).

El virus mezclado en embutidos con 80 % de carne magra molida y pH de 5.85 fue recuperado por 14 días almacenado a 4 C y por 40 días almacenado a menos 20 C. El VEA permanece por años a temperaturas de - 40 C caso contrario cuando la temperatura es de 100 C donde éste se inactiva en 1 minuto. En pH de 5 a 13 es estable pero cuando éste se torna ácido (2.0) o alcalino (14.0) resiste pocas horas (10,47).

La capacidad infectiva del VEA puede persistir hasta por 7 horas en el aire, con una humedad relativa de 55% o mayor. El VEA también puede permanecer en los pozos de agua sin clorar en las granjas y en afluentes de lagunas anaeróbicas por períodos de más de 7 horas y más de 2 días respectivamente (44,88).

Botner (11) informa que el VEA es inactivado a 5 y 20 C en 15 minutos en 15 semanas y 2 semanas respectivamente, a 35 C es inactivado en 5 horas y a 55 C no se detecta virus después de 10 minutos.

Schoenbaum *et al.* (73) en un estudio realizado para estimar la estabilidad del VEA suspendido en aerosoles bajo diferentes condiciones de temperatura y humedad relativa (HR) encontraron que el VEA decayó logarítmicamente con una actividad media de 17.4 minutos a 85 % HR y a 22 C, 18.8 minutos a 25 % HR a 22 C, 27.3 minutos a 85 % HR a 4 C, 36.1 minutos a 55 % HR y 22 C y 43.6 minutos 55 % HR a 4 C. La permanencia del VEA fue significativamente mejorada a 55 % de HR, comparada con aquellas a 85 % de HR ($P = 0.017$). Los tiempos de permanencia fueron mejorados a 4 C en comparación a la de 22 C. Dichos resultados sugieren que bajo las mejores condiciones de este estudio la infectividad del VEA en un aerosol disminuye en un 50 % en menos de 1 hora.

En general, la actividad del VEA está influenciado por la temperatura, humedad y el pH (10,78,79).

LATENCIA

Una característica de los herpesvirus es su invariable establecimiento de la infección en forma latente, independientemente del grado de inmunidad del animal. Durante su latencia el VEA no puede ser detectado, mientras que el genoma viral persiste. Diferentes estímulos pueden permitir la reactivación del VEA seguido por su excreción, por lo tanto los animales infectados latentemente representan el mayor riesgo epidemiológico (24,44,52,91).

La importancia epidemiológica de la EA radica en la capacidad del VEA para diseminarse a través de animales inmunodeprimidos. Los factores considerados para influenciar la diseminación del VEA latente son: tamaño del hato, probabilidad de reactivación en cerdos individuales y número de cerdos infectados latentemente en el mismo lugar (67).

El establecimiento de una infección latente dentro de un tejido implica que la replicación de virus infeccioso cesa, pero el genoma viral por sí mismo es mantenido en una porción de las células. Las bases bioquímicas para el establecimiento y persistencia de latencia son pobremente entendidas pero factores virales y celulares pueden estar involucrados en este proceso. La reactivación espontánea del VEA latente se da como resultado de varias situaciones de estrés, al mismo tiempo ésta puede ser inducida experimentalmente por administraciones repetidas de altas dosis de corticosteroides. Una estimulación de estrés natural se logra aplicando productos como prostaglandina E2 a una dosis de 3 mg cada 24 horas por 4 días, por vía intravaginal; prednisolona o dexametasona a una dosis de 1250 ó 1875 mg por 4 días consecutivos en animales adultos; y mediante fluctuaciones de temperatura medio ambiental de 18 C a 22 C y visceversa por algunos días (54,67).

La latencia está presente durante el período de incubación o puede persistir después de la recuperación de la enfermedad. En portadores latentes, la

latencia con persistencia del virus puede ser vista como una expresión de balance entre la infección y el sistema de defensa del hospedero (74,91).

Los corticosteroides desencadenan una gluconeogénesis para generar energía fácilmente utilizable (glucosa) para permitir la respuesta inmediata de alarma, pero la desaminación de los aminoácidos es la primera reacción gluconeogénica, acompañada de una inhibición del anabolismo en general, esto produce un efecto secundario, lo cual provoca la disminución en las tasas de síntesis e incluso destrucción de proteínas (incluyendo inmunoglobulinas) o grupos celulares (como leucocitos), lo cual produce inmunosupresión, más aún el timo parece ser especialmente susceptible a la acción de los corticosteroides (21).

La latencia del VEA se establece principalmente en el sistema nervioso central (SNC), en especial en ganglio trigémino, bulbo olfatorio, cordón espinal, encéfalo y en células del sistema hematopoiético (macrófagos y linfocitos); el VEA también puede ser localizado en tejido extraneural como tonsilas y mucosa nasal de los cuales el virus puede ser recuperado en un 20 % de los animales infectados latentemente. El DNA del VEA también puede ser detectado en hígado y bazo así como en células blancas y células del timo y aproximadamente un 50 % en células de la médula de los huesos (19,47,91).

Animales con anticuerpos calostrales o vacunados con vacunas inactivadas o de virus "activo" pueden ser infectados latentemente; sin embargo la latencia se reduce comparada con la de animales no vacunados (91).

Indicadores de una reactivación o diseminación del VEA es un incremento de anticuerpos séricos (56,67).

Annelli *et al.* (5) informan que animales individuales infectados son una fuente potencial para diseminar el VEA dentro y entre hatos.

Por otro lado Vannier *et al.* (84) señalan que el VEA persiste en las unidades de finalización por lo menos 5 meses.

TRANSMISION DEL VEA

El movimiento de animales infectados es la vía más común para introducir al VEA por primera vez en un hato, después de introducido el animal, la subsecuente transmisión del VEA depende de la replicación y virulencia de la "cepa", del estado inmunológico de los animales y de las características del hato (movimiento de los animales dentro de la granja y tamaño del hato (44).

La transmisión directa del VEA dentro de una granja comúnmente se dá: 1) por contacto directo nariz - nariz, ésta es la vía más frecuente por la cual el VEA es transmitido de cerdo a cerdo. Un cerdo es capaz de infectar por lo menos a 23 animales susceptibles; 2) durante la inseminación con semen infectado; 3) por vía transplacentaria y 4) por medio del aire el cual es otra vía para transmitir la infección dentro y entre hatos (4,12,27,47).

La transmisión indirecta es más común por inhalación de aerosoles que contengan al virus o por beber agua contaminada con el VEA (44).

La transmisión del VEA por fomites contaminados ha sido parte importante como fuente potencial de virus para la exposición oral de cerdos susceptibles, aunque bajo condiciones de granja siempre es difícil de probar el papel de la transmisión mediada por fomites. Entre estos se puede mencionar a las personas y algunas fuentes secundarias como botas, ropas, objetos para la limpieza, equipo y maquinaria, camas, residuos, entre otros. En heces y orina de cerdos infectados, el VEA puede estar presente, pero no en las cantidades suficientes para transmitir la infección y es inactivado a temperatura altas y el pH en pocas horas (10,47).

Los perros y los gatos son un factor importante en la diseminación del VEA dada la interrelación que tienen con las granjas, a su hábito de alimentarse de carne de lechones muertos, su libre deambular de granja en granja y a su susceptibilidad al VEA. Se piensa que las ratas y animales silvestres actúan como reservorios (68,91).

Existen informes de que la rata de campo tiene poca importancia en la transmisión del VEA debido a: 1) existe una alta resistencia a la inoculación oral e intranasal; 2) no se recupera el VEA ni se detectan anticuerpos en suero de ratas experimentalmente inoculadas; 3) es poco probable que queden como portadoras dado que tampoco se ha aislado el virus ni se han detectado anticuerpos en ratas atrapadas en granjas con brotes de EA; 4) las ratas tienen restringido su radio de acción y la transmisión lateral más allá del radio de acción no se ha reportado (68).

Las aves también están consideradas como vectores del VEA, sin embargo al igual que la rata de campo no se ha podido aislar el VEA de heces, hígado, pulmón y riñón de éstas y tampoco se ha detectado la presencia de anticuerpos (91).

Después de que se ha resuelto un brote de EA, la transmisión del virus comienza a ser menos activa hacia el hato en general, aunque no hay que olvidar que la infección por herpesvirus se caracteriza por un estado de latencia y durante la latencia, la infección por el VEA no puede ser detectada, mientras que el genoma viral persiste (44).

Schoenbaum *et al.* (74) al realizar un estudio, en el cual el objetivo fue inducir la latencia del VEA de manera experimental así como su reactivación con el propósito de estudiar la frecuencia y duración de diseminación, encontraron que la frecuencia y duración de positividad al VEA es estadísticamente significativa ($P < 0.05$) y consistentemente menor entre cerdos vacunados que entre cerdos no vacunados, por lo que la vacunación antes de exponer a los cerdos a un desafío da un pequeño efecto en el establecimiento del VEA (latencia) pero ésta reduce la diseminación del VEA después de una subsecuente reactivación.

EXCRECION Y REPLICACION DEL VEA

La excreción nasal del virus ocurre por 8 a 17 días con títulos máximos de $10^{5.8}$ y $10^{8.3}$ dosis infectante en cultivo celular 50 (DICC) por hisopo, de la

nasofaringe puede ser aislado por 18 a 25 días con títulos arriba de 10^6 DICC. El VEA se encuentra en secreciones vaginales y secreciones prepuciales por más de 12 días (91).

El VEA se replica en la serosa, plexos pampiniformes, ductos deferentes y túnica vaginal de los testículos y es aislado también del fluido escrotal. También es excretado en la leche de la hembra por 2 ó 3 días después del parto y ocasionalmente en la orina, pero no ha sido aislado de heces, aunque éste ha sido encontrado en hisopos rectales por 10 días (12,91).

Primariamente el VEA se replica en la región de la nasofaringe y en tracto respiratorio. En sistema respiratorio además de replicarse en mucosa nasal y faríngea el VEA pasa a tráquea y por acción mecánica llega a los alveolos donde también se replica, lo cual favorece la multiplicación de bacterias provocando neumonías bacterianas en un lapso de 24 a 72 horas (19,47,91).

Durante todo su trayecto, el VEA pasa también por ganglios retrofaríngeos a torrente circulatorio para llegar a diferentes órganos, por medio de los linfocitos en la sangre periférica, tales como bazo, hígado y útero (47).

La replicación del VEA también puede darse en células de la médula ósea de huesos, células del timo y linfocitos(91).

La replicación viral varía en las diferentes partes del cuerpo, las más altas cantidades del VEA son detectadas en los sitios de replicación primarios, por ejemplo, en nódulos linfáticos y tonsilas en donde persiste por 35 días, pequeñas cantidades se encuentran en pulmones donde el VEA persiste por 14 días y aún menores cantidades se encuentran en SNC donde persiste por 10 días (91).

ESPECIES AFECTADAS

El VEA tiene un amplio rango de hospederos, los cuales mueren después de la infección con la única excepción del cerdo adulto el cual sobrevive a la

infección; por lo tanto éste es de particular importancia para mantener la cadena de infección (13,19).

En animales domésticos la infección natural ocurre en: bovinos, ovinos, cabras, perros y gatos (44).

En animales silvestres como: el visón, zorro polar y zorro plateado. También se ha informado en animales de vida salvaje tales: como liebres, conejos salvajes, zorras, tejones, cerdos salvajes, martas, hurón, venados, ciervos, puerco espín, mofeta, oso polar, chacal, leopardos, ratas y ratones.

No se ha informado de la infección natural de caballos y aves; sin embargo, experimentalmente la infección de estos animales es posible si se administran grandes dosis de virus.

El hombre es considerado no susceptible al VEA, así como el mono Grivet, Rhesus y el mono Macaques, pero no los chimpances (91).

Respecto a los animales de laboratorio se tiene que el conejo es uno de los más sensibles al VEA (26). Las ratas y los ratones con más de un día de edad son altamente susceptibles, pero esta susceptibilidad disminuye conforme la edad aumenta (91).

INMUNIDAD

Está establecido que los mecanismos de defensa contra el VEA no quedan limitados a la actividad neutralizante de los anticuerpos, sino que más bien es la suma de la actividad de los anticuerpos y la actividad de células del sistema inmune (38,54,55).

Este método de defensa, que tiene gran importancia para el animal pues es uno de los que involucra tanto a la respuesta de tipo humoral (respuesta específica) como a la celular (respuesta inespecífica). Por lo tanto algunos

autores no lo consideran como un fenómeno que pertenezca solamente a la inmunidad humoral (38,42,55).

Después de una infección con el VEA de campo, los animales infectados desarrollan anticuerpos específicos los cuales son detectados en suero a los 6 días postinfección (PI). Primero aparece la inmunoglobulina IgM a los 6 u 8 días PI seguido de la IgA, IgG1 e IgG2. Las inmunoglobulinas IgM e IgA permanecen detectables en suero por períodos cortos, mientras que IgG1 e IgG2 persisten por períodos largos. Las inmunoglobulinas IgM, IgG1 e IgG2 son capaces de neutralizar al VEA, actividad que se realiza con el uso del complemento (41,42,43).

Después de una infección vía intranasal aparecen las inmunoglobulinas IgM e IgA en varias secreciones de la mucosa tales como saliva, lágrimas y fluidos de pulmón por un período de 6 a 10 días PI y permanecen detectables por un período de 1 a 3 meses (43).

Por otro lado, se tiene que mediante la ingestión del calostro, los lechones adquieren inmunoglobulinas tipo IgG1 e IgG2, las cuales circulan en el suero y desaparecen a las 16 ó 17 semanas con un mínimo de duración de 5 semanas aproximadamente. Estos anticuerpos maternos inhiben la replicación del virus (aunque no completamente), el desarrollo de signos clínicos, permiten el establecimiento de una respuesta de anticuerpos primaria en suero y en mucosa y el desarrollo de anticuerpos de memoria (43).

En la infección de epitelios se expresan altos niveles de complejos de histocompatibilidad clase 1 controlados por linfocitos T citotóxicos, mientras que la infección de neuronas no los expresan (42,43).

La respuesta primaria proporciona completa o casi completa protección contra una reinfección durante cierto tiempo, sin embargo después de la reinfección de animales inmunes, generalmente no aparecen signos clínicos, o bien estos son muy discretos y hay una ligera excreción de virus, así como una fuerte y rápida respuesta secundaria de anticuerpos (de memoria). Esta

inmunidad no permanece durante toda la vida del animal, pues el VEA puede ser nuevamente excretado después de la reactivación de algún virus latente. El mecanismo por el cual los herpesvirus se reactivan, aún no se conoce completamente; pero esta reactivación puede ser causada por inmunosupresión (42,43,44).

El VEA puede mantenerse dentro de las células sin destruirlas infectándolas latentemente, lo cual permite que sean reemplazadas, por lo que no hay manifestaciones aparentes de enfermedad, por otro lado el VEA puede infectar a la células contiguas sin salir de ellas y por ello el sistema inmune puede controlar la infección pero no eliminarla por lo que el animal permanece infectado de por vida (55,61).

La frecuencia de replicación en células del sistema hematopoyético disminuye con el incremento de la diferenciación celular paralelo a la edad de los animales, esto podría explicar la edad de resistencia de los cerdos a la infección del VEA (91).

DIAGNOSTICO

El diagnóstico rápido y certero de infecciones por VEA es fundamental para el control y erradicación de la enfermedad. Si el brote en cuestión es causado por una cepa de VEA francamente virulenta, el conjunto de historial clínico y los hallazgos a la necropsia pueden ayudar a un diagnóstico tentativo de la enfermedad. El diagnóstico de laboratorio para las infecciones por VEA se basa principalmente en la detección de antígenos virales en tejidos así como su aislamiento. (60,61,62).

A pesar de lo práctico de los métodos de detección de antígenos virales, las pruebas de aislamiento del VEA en sistemas celulares ha sido siempre la base fundamental de su diagnóstico, especialmente desde el punto de vista de sensibilidad y especificidad. La inoculación en animales experimentales fue usada por mucho tiempo y se le consideró como una prueba muy sensible. No obstante esta técnica ha sido reemplazada por la inoculación de cultivos celulares. El aislamiento del VEA en cultivos celulares es al igual que en el caso de otros Herpesvirus como el Herpes virus humano (HV) 1, HVs bovino, 1,2 y 4 (rinotraqueítis bovina infecciosa, mamilitis bovina y virus huérfano bovino), HVs equino 1 a 3, HV canino, HV felino, relativamente sencillo y rápido, debido a la presencia del efecto citopático que es característico de este subgrupo de herpesvirus (20,60,61,62).

La EA es más difícil de diagnosticar si únicamente están involucrados los cerdos en finalización o los adultos, ya que un brote de EA en estos animales fácilmente se puede diagnosticar erróneamente como influenza porcina si la enfermedad se manifiesta únicamente por signos respiratorios; sin embargo si algunos animales desarrollan signos nerviosos, se facilita el diagnóstico (44).

El diagnóstico de la EA generalmente se hace usando una combinación de elementos como son: historia del hato, signos clínicos, lesiones microscópicas y macroscópicas, serología y detección del virus (59).

Los signos clásicos son fallas reproductivas en el pie de cria principalmente abortos, retorno al estro, lechones momificados, nacidos débiles y muertos, en cerdos lactantes se presentan signos nerviosos que generalmente causan la muerte, llegando a alcanzar un 100 % de mortalidad y en los cerdos de engorda la EA se manifiesta principalmente de forma subclínica y generalmente causa una mortalidad menor al 5 %, retarda el crecimiento y favorece el establecimiento y la presentación de enfermedades respiratorias ocasionadas por bacterias como *Pasteurella spp* y *Actinobacillus spp* (16,86).

Los signos clínicos clásicos con frecuencia se acompañan de lesiones macroscópicas y microscópicas. Las lesiones macroscópicas que se pueden observar aunque no son las típicas de la EA son edema y hemorragias en nódulos linfáticos mandibular y retrofaríngeo y en los pulmones neumonía intersticial causada por infecciones secundarias con bacterias, degeneración focal en el miocardio, pleuritis y peritonitis con exudado, hemorragias bajo el endocardio, severa tonsilitis con úlceras y capas difteroides con diseminación a la epiglotis, congestión de diferentes órganos especialmente del cerebro y cordón espinal y focos necróticos en bazo, hígado y glándula suprarrenal. Las lesiones microscópicas se encuentran en SNC principalmente restringidos al cerebro donde se encuentra una meningoencefalitis no supurativa. Las lesiones se caracterizan por infiltración microglial difusa y focal ocasionalmente combinada con necrosis de neuronas e infiltración perivascular y meníngea de linfocitos, granulocitos y macrófagos. Algunas veces se encuentran inclusiones intranucleares tipo A (2,77,91).

La detección en campo de animales infectados con VEA se basa fundamentalmente en la determinación de anticuerpos específicos mediante técnicas serológicas. Actualmente existen varias técnicas, entre las cuales se puede contar con las pruebas que determinan el nivel de inmunidad celular, las que detectan al antígeno viral y las que detectan anticuerpos (29) (Cuadro 3).

La detección directa de antígenos se realiza por métodos inmunológicos en tejidos de animales infectados, un ejemplo de estos métodos es el de la técnica de inmunofluorescencia (IF) la cual es altamente eficaz cuando se aplica a tejidos

tales como tonsilas, cerebro, hígado fetal o pulmones. Otro método para la detección de antígenos virales es el de tinción por inmunoperoxidasa, que presenta la ventaja de combinar un sólo análisis de diagnóstico etiológico con el exámen histopatológico de la lesión. Para la detección de antígenos del VEA en muestras clínicas también se han utilizado pruebas de ELISA para la detección del antígeno en tejidos y fluidos corporales (77,91).

Las pruebas de aglutinación en latex (AL), la seroneutralización (SN) y el "Enzyme - linked immunosorbent assay" (ELISA) son los tres ensayos serológicos oficiales adoptados en los Estados Unidos de Norteamérica. Esto significa que son los ensayos comunmente aceptados para el intercambio, exportación y tráfico de animales entre diferentes estados y países (61,62) (Cuadro 4).

Tanto el ensayo de AL como el ELISA son más sensibles que la SN, pero al mismo tiempo ambas pruebas presentan menor especificidad lo que aumentaría la frecuencia de falsos positivos. Así mismo el ensayo de AL probablemente iguale a la ELISA específica para detectar a la inmunoglobulina IgM del VEA y, aún más, anteceda a la ELISA convencional y a la SN en la propiedad de detectar anticuerpos tempranos post-infección (59,61).

Sin embargo, es el ensayo de ELISA el que indudablemente proporciona la mejor combinación de rapidez, sensibilidad y practicidad en el diagnóstico serológico extensivo del VEA, además constituye la base de los ensayos que se usan en conjunto con las nuevas vacunas diferenciales. No obstante a las múltiples ventajas que posee, se tiene que esta prueba requiere de equipo costoso, reactivos complejos y no es cuantitativa (20,24,29,61,62,80).

A pesar de las desventajas que presenta son más los beneficios que se han obtenido al aplicarla al diagnóstico del VEA que actualmente está siendo utilizada como única prueba en los programas de erradicación de la EA que se están realizando en diferentes países, incluyendo a México en donde a partir de 1994 se inició La Campaña Nacional contra la Enfermedad de Aujeszky, en la cual únicamente se permite la aplicación de vacunas con delección del gen que

codifica para la glicoproteína gI y por lo tanto la única prueba válida para dicho propósito es la ELISA compañera de dicha vacuna.

Por otro lado se tiene que esta técnica no se limita al diagnóstico de la glicoproteína gI ya que cuenta con diversos "kits" comerciales para la identificación de glicoproteínas diferentes a esta. Para tal efecto, Schmitt *et al.* (71) realizaron un estudio para evaluar 3 "kits" comerciales de la técnica de ELISA para detectar anticuerpos para las glicoproteínas gX, gI y gIII en una población de cerdos infectados y no vacunados, encontraron diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.001$) en la detección de anticuerpos contra el VEA en el "kit" para la glicoproteína gX, comparada con los otros dos para las glicoproteínas gI y gIII respectivamente. Dicha diferencia podría ser debida: primero, a que la glicoproteína gX pudo no ser expresada consistentemente durante la replicación *in vivo* o pudo no ser tan inmunogénica como las glicoproteínas gI y gIII y segundo podría haber innatas diferencias en el funcionamiento de los "kits" para gI y gIII comparado con el kit para la glicoproteína gX, por lo que dedujeron que el "kit" de ELISA para detectar anticuerpos contra dicha glicoproteína no es eficiente para detectar animales infectados en forma natural porque esta glicoproteína no juega un papel importante en la envoltura del VEA como lo hacen las glicoproteínas gI y gIII.

Engel *et al.* (28) lograron erradicar la EA en 22 meses de un hato productor de lechones que había sido afectado por el VEA tres veces en 10 años mediante el uso de un programa de vacunación con una vacuna de virus inactivado gI negativo y su respectivo "kit" de diagnóstico; dicho programa consistió en vacunar a todo los animales del pie de cría cada 6 meses y los animales de reemplazo libres del VEA eran vacunados antes de entrar a la granja. Cuando los animales del pie de cría seropositivos fueron eliminados se procedió a tomar muestras del 100 % de estos y se tomaron también algunas muestras del área de destete cada 3 semanas. Cuando no hubo seroconversión para la glicoproteína gI la granja fue declarada libre de la EA.

Pero a pesar de las ventajas que la prueba de ELISA ofrece para los programas de control y erradicación del VEA, algunos autores como Schoenbaum *et al.* (72) prefieren la prueba de aglutinación en latex (AL) para el diagnóstico del VEA. Estos investigadores informan que la AL es más sensible que la SN y la ELISA en detectar anticuerpos vacunales y anticuerpos inducidos por infección. Señalan además que después del desafío de cerdos no vacunados la prueba de AL detecta anticuerpos 4 días antes que la SN y 2 días más temprano que la de ELISA. También informan una especificidad cercana al 100 % para las tres pruebas. Por lo anterior, dichos investigadores concluyen que la prueba de AL es una buena alternativa a la SN o ELISA para detectar anticuerpos específicos contra el VEA.

Por otro lado Ramírez y cols. (66) en un estudio realizado para conocer la correlación que existe entre las pruebas de SN, ELISA y AL y las posibles variaciones entre ellas, encontraron que, la correlación entre SN y AL fue de 85.62% y 77.12%, entre SN y ELISA de 87.58 % y en menor porcentaje entre ELISA y AL la cual fue de 80.39 %. Por lo que dado los porcentajes de correlación obtenidos concluyeron que las 3 técnicas pueden ser utilizadas conjuntamente para realizar el diagnóstico del VEA, mencionan además que la SN ofrece la ventaja adicional de brindar títulos serológicos para evaluar programas de control y/o erradicación.

La técnica de ELISA mide anticuerpos unidos a diferentes epítopes virales, lo cual incrementa las posibilidades de detectar anticuerpos séricos tempranos post-infección, los cuales no necesariamente son neutralizantes, en estos casos estos anticuerpos tempranos dan resultados negativos en la prueba de SN pero positivos mediante la prueba de ELISA. Los anticuerpos tempranos usualmente pertenecen a la clase IgM (20,43,62).

Sierra y cols. (75) Al realizar un estudio en el cual el objetivo fue conocer el porcentaje de cerdos positivos y negativos de varios estados de la república a la glicoproteína gl del VEA mediante la técnica de ELISA por medio de dos "kits" comerciales, encontraron que ambos tuvieron una correlación del 100 % al obtener el 100 % de sueros negativos a dicha glicoproteína y que debido a la alta

confiabilidad, sensibilidad y especificidad de la técnica, ésta es de gran utilidad para la erradicación de la EA en México.

La prueba de ELISA ha reemplazado a la SN en laboratorios que procesan un gran número de sueros, debido principalmente al poco tiempo que se requiere para realizar esta prueba, el cual va de 3 a 4 horas (13,44,61,62).

Sin embargo, es la técnica de SN la que se ha considerado como la prueba de referencia para comparar nuevos procedimientos para titular anticuerpos virales del VEA, pues si bien es cierto que una de sus mayores desventajas es el tiempo que requiere para obtener resultados el cual va de 4 a 5 días, esta es altamente sensible y específica (24,66,78,91).

La prueba de seroneutralización es utilizada para: a) la Identificación del virus con sueros específicos de referencia, b) el diagnóstico de infección viral por el aumento de títulos de anticuerpos específicos en el curso de una enfermedad y c) la determinación de niveles de protección de granjas, ya que en general los anticuerpos neutralizantes persisten en suero durante tiempos prolongados (65).

Pruebas serológicas con resultados positivos indican que la infección ocurrió de 7 a 12 días o más antes de que las muestras fueran obtenidas. Pruebas con resultados negativos indica que los animales no fueron infectados hasta 7 a 12 días antes de la colección de las muestras, sin embargo la infección podría ocurrir subsecuentemente (78).

Se ha postulado que algunos animales pueden estar infectados en forma latente con el VEA sin que estos sean positivos a la presencia de anticuerpos. Ningún estudio se ha hecho para saber la probabilidad o frecuencia de ocurrencia de portadores seronegativos; sin embargo se sabe que en ratones infectados con virus *Herpes simplex 1* , no menos del 99 % desarrolló anticuerpos mientras portaba una infección latente (61).

La interpretación de los resultados serológicos suele ser difícil, especialmente en cerdos jóvenes. En lechones los anticuerpos maternos pueden

estar presentes por más de 4 meses después de nacidos. La vida media de los anticuerpos maternos que recibieron los lechones mediante el calostro de las cerdas inmunes al VEA es aproximadamente de 18 días, esto es que toma 18 días para que los títulos de anticuerpos disminuyan a la mitad, por lo que si se muestrean lechones de una hembra inmune durante ese período, estos podrían ser identificados como si estuvieran infectados por el VEA, cuando en realidad los anticuerpos son pasivos y no el resultado de exposición e infección activa (44,61,62).

Si se utilizan pruebas de diagnóstico serológico para diagnosticar una infección activa, es necesario utilizar muestras de sueros pareados, colectándose éstas con un intervalo de 2 semanas entre muestreos y demostrar un aumento de cuatro veces el título de anticuerpos. Una prueba serológica positiva única indica infección, pero no indica cuando ocurrió ésta. Los títulos altos de anticuerpos contra los títulos bajos en un muestreo pueden indicar una respuesta inmunológica superior en un individuo en particular en lugar de una exposición reciente al VEA (44).

VACUNAS Y VACUNACION

En general la vacunación supone aplicar a un animal un antígeno procedente de un agente infeccioso, de manera que aparezca una respuesta inmune y se consiga la resistencia contra dicho agente infeccioso (13,15,53).

Es de vital importancia tener en mente que las vacunas no previenen las infecciones latentes en cerdos infectados posteriormente a la vacunación y no se eliminan éstas si existían antes de la vacunación, ya que éstas sólo disminuyen la enfermedad clínica y por lo tanto las pérdidas económicas pero no previenen la diseminación (43,53,91).

El principal requerimiento para las vacunas contra el VEA es que prevengan el establecimiento de la infección o bien si ya está presente la enfermedad que reduzca la expresión de virus tanto como sea posible (44,53).

El uso de las vacunas ha sido discutido y las opiniones varían en base al deseo de controlar o erradicar la enfermedad (53).

McMillen (1992) menciona que para obtener éxito en un programa de erradicación de la EA deben incluirse vacunas que efectivamente reduzcan la circulación del virus de campo en un hato vacunado y el uso de vacunas por medio de las cuales se pueda obtener una respuesta serológica diferencial entre un virus de campo y uno vacunal (49).

Un programa de vacunación en una granja es importante, puesto que es el método principal de control que existe actualmente, el cual tiene como meta: a) inhibir la diseminación si ocurre reactivación del VEA latente, b) disminuir infecciones nuevas si una hembra joven es expuesta al VEA, y c) disminuir la incidencia de latencia si ocurre infección (44,69).

La frecuencia de administración tiene un efecto sobre la respuesta inmune pero no existen datos sobre el intervalo óptimo ya que el calendario de vacunación aplicado en una granja en particular es único para esa granja y el

beneficio que se obtenga no sólo dependerá del tipo de vacuna y su aplicación ya que éstas son sólo parte del programa preventivo en la granja (54,56).

Las vacunas disponibles actualmente en el mercado mundial protegen efectivamente a los cerdos contra signos clínicos y por ello han reducido las pérdidas económicas para los productores que han vacunado en áreas endémicas. Los cerdos vacunados que posteriormente llegan a infectarse tienen invasión de tejidos más limitada, usualmente circunscrita al sistema respiratorio inferior; no transmiten virus intrauterinos, diseminan menores cantidades de virus, en muchos estudios se ha comprobado que hasta 1000 veces menos; y producen una diseminación del VEA de duración más breve (44,53).

Las vacunas de virus activo modificado se replican principalmente en el sitio de inyección y en los nódulos linfáticos regionales; se ha demostrado que se dispersan en las secreciones nasales y moco amigdalino, pero en niveles muy bajos como para que haya algún riesgo de transmisión hacia los cerdos o hacia cualquier otra especie animal (53,91).

Este riesgo, y la preocupación de reversión de las vacunas de virus activo modificado han conducido a la mejoría de *vacunas de virus inactivado*. El empleo de nuevos adyuvantes ha hecho que la eficacia de algunas de estas vacunas inactivadas sea bastante competitiva con las vacunas de virus activo modificado, especialmente cuando se usan dosis múltiples (53,88).

La introducción de los métodos de la ingeniería genética abrió el camino para el diseño de las vacunas diferenciales. Mediante la delección de ciertos genes del genoma viral, ha sido posible producir partículas virales fenotípicamente diferentes a las que se presentan naturalmente en el campo (26)

El uso de vacunas contra la EA se volvió compatible con la serología sólo después de la aparición de las *vacunas diferenciales*. Previamente a la aparición de éstas, el uso de la vacunación para prevenir las pérdidas económicas ocasionadas por los brotes del VEA impedía el uso posterior de ensayos

serológicos para detectar infección en las granjas en que se usaba la vacunación (43,49,61).

Dicho tipo de vacunas activas o inactivadas contra la EA han sido diseñadas con deleciones precisas de ciertos genes. En consecuencia, las proteínas codificadas por lo genes eliminados no son producidas por estas cepas vacunales (49,61).

Actualmente se ha descrito una prueba de ELISA para detectar anticuerpos exclusivamente para la glicoproteína gl. Los cerdos vacunados con una cepa gl negativa tal como la cepa Bartha o Bucharest son negativos a esta prueba mientras que cerdos infectados con una cepa de campo son positivos (43).

Molitor (1987), cita tres requisitos fundamentales para que una proteína sea considerada un marcador serológico ideal:

1) El gen que codifique esta proteína marcadora debe ser eliminable de la "cepa" vacunal sin perjudicar la eficiencia replicativa de la "cepa", es decir, que la cepa debe replicarse en cultivos celulares alcanzando títulos aceptables. Debido a la eliminación de ciertas fracciones en el gen, que sufren estas "cepas" pasan a ser denominadas "mutantes de deleción".

2) La proteína seleccionada como antígeno marcador debe ser producida por todas las "cepas" de campo del VEA.

3) Todos los animales infectados en forma natural por "cepas" de campo deben producir una respuesta de anticuerpos específicos contra esta proteína marcadora (60,61).

Así pues, al suprimir por ejemplo, la fracción gl del genoma viral, el virus resultante no presentará la glicoproteína gl en su envoltura y, consecuentemente, el sistema inmune del animal inoculado con este virus no queda expuesto a dicha glicoproteína de tal forma que no producirá anticuerpos contra ella (26).

Existen algunas ventajas del marcador gl, entre éstas se puede mencionar que el anticuerpo anti-gl está implicado de manera limitada en la inmunidad, mientras que tiene una influencia de gran importancia sobre la virulencia del virus, esto es, que su eliminación mejora significativamente la seguridad de las vacunas de virus activo contra la EA.

Después de una infección de campo siempre se producen anticuerpos anti-gl, los cuales persisten mas de 2 años en el animal. Todos los virus de campo probados hasta la fecha contienen la secuencia gl y, por lo tanto, todos ellos estimulan al sistema inmune para producir anticuerpos anti-gl (26,60).

Actualmente a nivel mundial existen tres tipos de glicoproteínas marcadoras para la diferenciación del VEA que son: gX, gl y gIII. La mayoría de estas cepas recombinantes, mutantes de delección que carece de uno de estos genes han sido desprovistas también del gen que codifica la enzima TK lo cual acentúa mucho la virulencia de estas "cepas" (49,61,88).

En muchos países sólo se usan vacunas marcadas (con delección de alguna glicoproteína) y su eficacia con respecto a la reducción de la diseminación del virus después de la infección no ha sido ampliamente comparada (89).

VanOirschot (88) encontró que animales vacunados con una vacuna gl negativa al ser expuestos a animales inoculados con virus de una "cepa" ligeramente virulenta, no todos desarrollaban signos clínicos característicos de la enfermedad o diseminaron el virus y todos desarrollaron anticuerpos contra dicha glicoproteína, los cuales persistieron en los animales hasta por 7 meses. Estos resultados apoyan la idea de que la EA puede ser erradicada mediante un programa basado en la vacunación con vacunas gl negativas, en conjunto con la detección y subsecuente eliminación de cerdos positivos a la presencia de anticuerpos contra la glicoproteína gl.

Vannier *et al.* (83) En un estudio realizado para comparar los niveles de protección clínica y los niveles de excreción viral en animales inoculados con vacunas con delección gl, gX y gp63 respectivamente, encontraron que aquellos

animales que fueron vacunados con la vacuna con delección gI diseminaron menos días el virus (hasta 6 días post infección) comparado con los resultados obtenidos en los animales inoculados con las vacunas con delección gX y gp63 los cuales lo diseminaron hasta por 8 y 9 días post infección, los cuales coincidieron con los animales del grupo control; además informaron que dicha vacuna confiere altos niveles de anticuerpos neutralizantes en los animales.

Por otro lado se tiene que Vandeputte *et al.* (82) Al comparar una vacuna gI (+) con una gI (-) encontraron que ambas vacunas son altamente seguras pues no producen ninguna reacción general o local y no incrementan la temperatura corporal, si bien existe una diferencia en la ganancia de peso la cual es de 2.25 % para la vacuna gI (+) y de 2.13 % para la gI (-) esta no es significativa. La excreción viral para ambas vacunas estuvo limitada a la primera semana post infección en contraste con los animales no vacunados los cuales diseminaron el virus por un período de 14 días post infección y lechones nacidos de hembras vacunadas con cualquiera de las dos vacunas fueron protegidos en un 93 % lo cual demuestra que la ausencia de alguna glicoproteína no afecta la inmunidad materna así como la seguridad de la vacuna.

CONTROL Y ERRADICACION

El objetivo final de las acciones de control de una enfermedad es llegar a su erradicación (13).

Experiencias recientes indican que la ausencia de un programa de control efectivo contra el VEA aumentará la prevalencia en las áreas de alta concentración de cerdos donde los hatos son relativamente grandes, manejados en forma intensiva y alojados en confinamiento parcial o total (23,58).

Bajo condiciones intensivas, las implicaciones de que no se tengan medidas formales de control harán progresar la diseminación del virus entre las granjas de cerdos, aumentarán los gastos por vacunas por un tiempo indefinido, reducirán la productividad debido a la ausencia o fracaso de un programa de vacunación (39,54).

Actualmente las enfermedades del cerdo disminuyen la productividad de una granja del 15 al 40 % aproximadamente. Cuando estos problemas de salud se presentan por primera vez en la granja, pueden afectar a toda la piara y posteriormente permanecer en la granja, por lo que es importante aplicar medidas que conduzcan a su prevención y control (16,23).

Un análisis de costo-beneficio indica que bajo ciertas circunstancias un programa de erradicación exitoso es menos costoso que el no contar con una política formal o su control a largo plazo (44).

En un estudio colectivo llevado a cabo en Iowa en 16 granjas, las pérdidas económicas por la EA fue estimada en \$ 462,587 dólares durante tres años.

En estudios pilotos hechos en Estados Unidos de Norteamérica se encontró que los costos totales por hato infectado fueron de 2,441 dólares en Wisconsin, 3,939 dólares en Iowa y 12,622 dólares en Pensilvania.

Si la política tomada es para controlar o erradicar el VEA, hay tres componentes que son comunes a ambas: 1) debe establecerse si la EA está presente en una región/país, y si es así, que tan prevalente es; 2) si se detecta el VEA, deben establecerse guías para controlar la diseminación entre los hatos; y 3) debe reducirse la prevalencia en las granjas infectadas existentes. En un programa de control o de erradicación, estos procedimientos generalmente ocurren simultáneamente (57).

Antes de adoptar un costoso programa de erradicación para la eliminación del VEA, debe llevarse a cabo una evaluación epidemiológica de la granja así como tomar en cuenta ciertas características del VEA, como son: fuente de infección, transmisión y permanencia del VEA en el medio ambiente, la validez de la prueba y debe imponerse un estricto programa de control en la granja tal que existan pocas o mínimas probabilidades de ser reinfectada (13,78).

Algunas de las consideraciones epidemiológicas a nivel de la granja son: tipo de operación, grado de aislamiento de la granja, prevalencia de anticuerpos, tipo de instalaciones, valor del material genético, perfil general de enfermedades, prevalencia de la EA en el área, rutinas de manejo y disponibilidad de animales de reemplazo (13,78).

METODOS DE ELIMINACION DEL VEA

Se han descrito en la literatura cuatro planes básicos para eliminar al VEA, éstos son: 1) despoblación-repoblación, 2) prueba y eliminación, 3) manejo / vacunación y 4) segregación de la descendencia (2,7,13,17,18,57,78,79).

1) DESPOBLACION-REPOBLACION

Aunque esta opción tiene la probabilidad de éxito más alta, es un procedimiento costoso por el tiempo prolongado durante el cual no hay producción. Sin embargo la despoblación puede ser la opción de elección si hay una alta seroprevalencia del VEA en la granja (> 50 % de seropositividad), si hay

múltiples problemas con la enfermedad (respiratorios por ejemplo), si las líneas genéticas son de poco valor, y si el área de servicios y gestación está completamente confinado, si la EA es enzoótica en el área y si el propietario tiene una fuerte base financiera (2,7,17,57,78).

El método más común es la eliminación de los animales de la línea cuando estos alcancen el peso para enviarlos al mercado y alternativamente, se eliminan las hembras infectadas en el área de servicio. Después de eliminar a todos los animales se procede a limpiar y desinfectar las diferentes áreas de la granja, incluyendo material y equipo. Posteriormente a esto se dejan vacíos los edificios por lo menos durante 30 días para después iniciar la repoblación de la granja. Si lo anterior se hace correctamente, se asegura que la piara estará libre de la EA en el corto plazo, proporciona la oportunidad de repoblar con animales libres del VEA, genéticamente superiores y evita el costo de la vacuna así como de pruebas serológicas extensivas (48,78,79).

2) PRUEBA Y ELIMINACIÓN.

Bajo condiciones favorables este programa es el más sencillo de realizarse y el menos costoso y el que interrumpe menos el manejo y el flujo de animales al mercado. Es recomendado cuando la seropositividad de la granja es menor al 50 %, cuando no hay presencia de signos clínicos, si se desea conservar el material genético y si se cuenta con un sistema de alojamiento independiente para animales de diferentes edades (2,13,79).

Este método requiere de probar serológicamente a todo el pie de cría y eliminar de forma inmediata a los animales seropositivos y 30 días después debe ser probado nuevamente. Esto debe repetirse cuantas veces sea necesario, hasta que todas las pruebas sean negativas. Después de una segunda prueba negativa el régimen de prueba puede ser cambiado para mantener el certificado de libertad, lo cual requiere probar al 25 % del hato cada 4 meses (13,78,79).

El método es compatible con el monitoreo serológico y evita el costoso uso de vacunas a largo plazo. El procedimiento es caro en el corto plazo, ya que requiere muchas pruebas serológicas (13,78)

En Dinamarca un programa de erradicación contra la EA fue iniciado en 1980 y a finales de 1986 ésta fue erradicada usando en combinación los métodos de prueba y eliminación y despoblación - repoblación (7).

En dos distritos del Norte de Alemania, en 1990 se usó en combinación la vacunación y el método de prueba y eliminación para eliminar al VEA. Se usó una vacuna con deleción gl negativo y su respectivo "kit" de diagnóstico, para diferenciar animales infectados en forma natural de aquellos vacunados. El programa incluyó una fase de intensa vacunación para reducir la prevalencia del VEA seguido de la prueba y eliminación de los animales seropositivos. En el programa de vacunación, las hembras y los sementales fueron vacunados 3 veces al año y la descendencia a las 10 - 13 semanas de edad. Todos los hatos incluidos fueron muestreados serológicamente cada 3 meses. De 1990 a 1993 la proporción de animales de pie de cría infectados disminuyó de 74.3 % a 25.3 %. En 1993 el programa de prueba y eliminación fue aplicado en hatos productores de pie de cría reduciendo la prevalencia del VEA a 0.4 % y para 1994 ya no hubo animales seropositivos en la progenie de los reproductores. Para finales de 1995 se espera que dichos distritos sean libres del VEA (7).

3) MANEJO / VACUNACION

Este programa es una modificación del programa de prueba y eliminación y difiere en el sentido de que no se prueba a todo el hato en cierto tiempo removiendo a todos los individuos seropositivos; en lugar de esto se espera a que la seroprevalencia decline en el hato, las hembras y sementales seropositivos son escogidos y reemplazados por animales seronegativos como parte de un programa normal de reemplazo.

Se dá al hato como libre del VEA, cuando todos los animales de una muestra representativa son seronegativos con un nivel de confianza predeterminado.

Este método es obviamente menos eficiente que el anterior y tiene el riesgo de que individuos infectados puedan no ser detectados, por lo que los hatos declarados libres del VEA por éste podrían permanecer en una categoría de alto riesgo y tienen monitoreos periódicos para mejorar la oportunidad de una detección rápida si un brote ocurre en el hato.

Sin embargo existen informes que indican que hatos que han sido liberados del VEA por este método no han sufrido de brotes nuevamente (57).

4) SEGREGACION DE LOS DESCENDIENTES

Este método se aconseja en caso de que la seroprevalencia en la granja sea del 50 %, se mantenga estable o esté declinando, cuando la calidad genética sea valiosa, cuando no haya presencia de signos clínicos y exista disponibilidad de instalaciones de aislamiento para alojar a la descendencia segregada (13,78,79)

Existen diferentes procedimientos de segregación para lograr un alto nivel de salud en un hato. Estos incluyen el Destete Medicado Temprano (MEW), Destete Medicado Temprano Modificado (MMEW) y tres sitios y múltiples sitios de producción aislados (ISOWEAN®) (2,57,78,79).

El procedimiento aplicado a una empresa porcina en particular depende del capital disponible, extensión y tamaño de la operación y el tipo de producción (25).

La segregación a diferentes edades (SDE) comienza al destete, los cerdos son separados en distintos grupos de edades diferentes, después cada grupo es

alojado en lugares limpios y desinfectados. Estos grupos de cerdos de edad similar permanecen juntos hasta la edad para ser enviados al rastro (2,25,36).

A pesar del procedimiento usado para SDE tres conceptos son comunes a todos:

1) El control de la progenie de las cerdas, de modo que los cerdos destetados tempranamente (preferiblemente con menos de 21 días de edad) puedan ser destetados bajo un sistema todo-dentro/todo-fuera, sin mezclar edades en un edificio.

2) El flujo de cerdos con sistema todo-dentro/todo-fuera por edificio con limpieza y desinfección cuidadosa entre grupos.

3) El continuo uso de medicación es reemplazado por medicación selectiva y estratégica y programas de vacunación sólo si son requeridos (36).

Los principios SDE pueden ser aplicados en granjas de un sitio (ciclo completo) para mejorar el funcionamiento de la granja y mejor aprovechamiento de los cerdos. Para maximizar los beneficios de SDE, particularmente en la producción de pie de cría libre de agentes infecciosos y en cerdos que vienen de múltiples fuentes, es necesario, separar varios lugares de producción por 2 ó 3 km de distancia entre ellos. Para la producción de pie de cría o cerdos para abasto las etapas de crecimiento son localizadas en tres o más sitios (2,36).

La desventaja principal del programa de segregación de los descendientes de animales positivos al VEA es el manejo del hato con el único beneficio de que se haya eliminado el virus. (2,57)

Las innovaciones recientes que involucran el destete en una edad relativamente temprana han permitido la eliminación de otros agentes infecciosos simultáneamente. Esta segregación modificada de los descendientes debe ser exitosa para la eliminación del VEA, puesto que será menor la posibilidad de que ocurran infecciones antes de la segregación (2,48,57).

DESTETE MEDICADO TEMPRANO (MEW)

En 1979, el Dr. Tom Alexander y colaboradores (1) desarrollaron el primer programa de MEW como una alternativa a los procedimientos de histerectomía, animales libres de patógenos específicos (SPF) y mínimo de enfermedades para la población o repoblación de granjas.

En este programa las hembras gestantes se separan del hato original 10 días antes del parto y son medicadas, durante la lactación los lechones reciben altas dosis de medicación, a los 5 días de edad estos son destetados y segregados a un edificio con sistema todo-dentro/todo-fuera, y se continúa la medicación por otros 10 días. Cuando los cerdos tienen entre 20 y 35 kg de peso, se suspende la medicación y los animales son segregados a una unidad aislada (1,33,36) (Cuadro 5).

Este programa ha sido aplicado a gran escala en el Reino Unido, Alemania, Estados Unidos, Canadá, Brasil y Hungría para establecer un amplio control contra un rango de enfermedades infecciosas, éstas incluyen agentes como: *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Mycoplasma hyosynoviae*, *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Serpulina hyodysenteriae*, virus de la Gastroenteritis Transmisible y VEA (1,36) (Cuadro 6).

Algunos hatos primarios relativamente grandes se han establecido a partir de piaras que presentaban alguna enfermedad utilizando el programa de MEW, y han permanecido libres de infecciones que existían anteriormente en las granjas. Algunos hatos secundarios se han establecido utilizando la repoblación directa a partir de los hatos primarios lo cual comprueba la efectividad de este método (48).

Estas granjas tienen un alto nivel en cuanto a la ausencia de patógenos potenciales, pero no garantizan que puedan existir algunos inconvenientes. Por ejemplo se tiene que los animales que provienen de estos hatos han demostrado tener una baja inmunidad ya que no han sido expuestos a los antígenos que normalmente existen en una granja y algunos tienen serios problemas de

adaptación, particularmente cuando se transportan en grandes grupos; paradójicamente, el poco desarrollo de la inmunidad ofrece evidencia adicional de la efectividad de este método (2,14,48,57).

DESTETE MEDICADO TEMPRANO MODIFICADO (MMEW)

El método de MEW se modificó para permitir que las cerdas permanecieran en la granja de origen y parieran en esta misma unidad y la edad de destete se prolongó hasta 21 días dependiendo de las características de la explotación (36,48).

Las hembras paren en la granja de origen y los lechones son trasladados a una sala de destete a los 5-21 días de edad. La edad de destete, las vacunas y la medicación utilizadas son fundamentales en la eliminación de los agentes presentes en la zona y particularmente en la granja de origen (14,48) (Cuadro 7).

Se ha demostrado que por medio de MMEW se pueden eliminar las siguientes enfermedades y agentes patógenos: PRRS (Síndrome Disgénico Respiratorio del cerdo), virus de la Influenza Porcina, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actinobacillus (Haemophilus) pneumoniae*, *Pasteurella multocida* toxigénica, VEA y virus de la Gastroenteritis Transmisibile (GET) (36).

Este procedimiento permite obtener cerdos con un elevado estado de salud al eliminarse ciertos agentes infecciosos presentes en las madres o en las piaras de origen, lo cual puede ser importante, para poblar piaras nuevas, recién despobladas o substituir reproductores para piaras de un alto estado de salud, da la oportunidad de homogeneizar el estado de salud de cerdos de diversas fuentes, para poder mezclarlos y criarlos juntos, permite la reducción o eliminación de medicamentos, da mayor productividad y eficiencia, aumento de la resistencia a las enfermedades a una edad temprana, mejora el crecimiento de las piaras existentes de bajo estado de salud y mejora el rendimiento de la producción sin la necesidad de despoblar y, permite la creación de piaras nuevas

en donde las instalaciones de servicio, gestación y partos sean independientes de las instalaciones de lactación, engorda y finalización (33,36,48).

TRES SITIOS MULTIPLES DE PRODUCCION (ISOWEAN®)

Harris *et al.* en 1988, propusieron la separación de las etapas de producción en tres sitios y múltiples sitios de producción con el objetivo de simplificar la técnica de segregación y poder darle una mejor aplicación. Estos investigadores basaron su hipótesis de producción en sitios múltiples, en los resultados alcanzados por el Dr. Tom Alexander al utilizar el sistema de MEW (2,22,32,36,48).

Son numerosos los países donde actualmente se emplea el sistema de tres sitios y múltiples sistemas de producción. En América del Norte especialmente en Estados Unidos casi la totalidad de la producción corporativa emplea este sistema, lo cual ha permitido establecer pirámides productivas que sobrepasan las 100,000 hembras reproductoras (14).

En Brasil, Argentina y Chile, así como en México donde se estableció en 1990 el primer sistema de sitios múltiples de producción, también está siendo utilizado aunque en menor dimensión y con buenos resultados. En Europa, España ha demostrado gran interés por este sistema y existen ya centros de producción con resultados exitosos, así como en algunos países del continente Asiático (14).

Los sistemas de tres sitios y múltiples sitios de producción, incluyen la construcción o reconstrucción de granjas en tres o más sitios para albergar cerdos, incluye lugares para animales de varias edades en diferentes sitios geográficos. Esencialmente, tres sitios y múltiples sitios de producción, son una herramienta usada para crear y mantener un elevado estado de salud en las granjas (31,36)

Aunque este sistema fue concebido originalmente para granjas productoras de pie de cría, también puede ser aplicado en granjas comerciales (en los cuales los sitios 2 y 3 pueden quedar como uno solo, siendo entonces una granja de dos sitios) obteniéndose dos grandes beneficios al utilizarlo. 1) los lechones tienen una microflora diferente a la de sus madres y 2) los lechones muestran tasas de ganancia mejores, comparados con aquellos criados en un sistema convencional (8).

En este sistema, varias fases de la producción se llevan a cabo en múltiples sitios aislados (Cuadros 8,9,10 y 11).

En el sistema de tres sitios de producción, el primer sitio está formado por las áreas de servicios, gestación y maternidad. Los cerdos son destetados (usualmente a los 21 días de edad como máximo) y son trasladados a un segundo sitio, en donde permanecen hasta alcanzar de 20 a 35 kg de peso y posteriormente se trasladan al tercer sitio que puede ser de desarrollo/finalización o únicamente de finalización. Los tres sitios deben estar bien aislados uno del otro (dos a tres kilómetros mínimo entre los sitios si la eliminación de un agente infeccioso es la primera razón) y se deberán seguir estrictas medidas preventivas en materia de movimiento de personal y transporte. Todas las áreas son construidas y manejadas utilizando principios de un estricto programa de todo-dentro/todo-fuera (3,22,36).

Las salas de destete deben ser construídas para albergar animales hasta de 5 días de edad en caso de que exista la necesidad de eliminar ciertos agentes que están presentes en el sitio uno (2).

Los sitios múltiples de aislamiento proveen una separación de la cadena de producción y por lo tanto disminuyen el riesgo de una transmisión de la enfermedad ya sea vertical u horizontalmente, además de facilitar su control y en ciertos casos la erradicación del VEA; los sistemas diseñados de esta forma pueden disminuir la necesidad de una despoblación total por lo menos en lo que respecta al pie de cría, así como posiblemente otros componentes del sistema,

cuando se presenta una enfermedad económicamente significativa. Además permiten la eliminación de enfermedades en forma más rápida (2,9,34).

Los cerdos provenientes de sistemas de tres sitios y múltiples sitios de producción obtienen mayores ganancias diarias, tienen mejor conversión alimenticia y mayor depósito de tejido muscular, estos logros son muy importantes si se comparan con los obtenidos de cerdos criados en sistemas de flujos continuos (14,31) (Cuadros 12 y 13)

Cuando los productores tienen explotaciones con 2000 hembras o más, frecuentemente tienen problemas para mantener un estado de salud alto en las instalaciones ya sean de ciclo completo, lechoneras o de engorda. Como consecuencia del tamaño de las explotaciones, varios niveles de infección aparecen en las unidades de producción complicando la coordinación del personal y el movimiento de animales se torna más difícil (2,14,34,57).

Aparentemente las principales desventajas de tres sitios y múltiples sitios de producción son: el elevado requerimiento de capital para tierra, el establecimiento de múltiples sistemas de manejo de excretas y el aumento de costo para mover a los animales. Estos costos sin embargo, pueden ser compensados por el decremento en la presencia de enfermedades y por lo tanto el incremento en la ganancia diaria de peso, disminución en la conversión alimenticia y como consecuencia de esto, elevados niveles de productividad (36).

Es necesario tener presente que el sistema de ISOWEAN® trae consigo cambios tecnológicos que muchos técnicos y productores deben comprometerse a seguir:

a) En cuanto a bioseguridad, movimiento de animales y alimentos, es necesario tener absoluta conciencia para seguir las normas establecidas entre los tres sitios y otros centros de producción.

b) La estabilidad de la inmunidad del hato reproductor y la absorción del calostro son de primera importancia.

c) La edad del destete debe establecerse según sea la necesidad o la enfermedad que se quiera eliminar. Si en el sitio 2 se agrupan lechones de diferentes granjas, la edad del destete la determina la granja con el nivel sanitario más bajo. Nunca deben mantenerse en el sitio 1 lechones atrasados con respecto a su fecha de destete, no importando cual sea la razón.

d) Debe contarse con instalaciones adecuadas para recibir a los lechones así como un régimen alimentación adecuado para estos (14).

Harris *et al.* (35) mediante el uso del sistema de producción ISOWEAN® obtuvieron animales reproductores libres del VEA de una granja de 250 vientres que fue afectada por el VEA, lo cual lograron por medio del siguiente procedimiento: inmediatamente después de ser detectado el VEA se procedió a vacunar a todos los animales adultos dos veces con una vacuna "activa" modificada, posteriormente los sementales fueron vacunados cada 6 meses y las hembras al destete y 4 semanas antes del parto. Los animales de reemplazo fueron vacunados 5 y 1 semanas respectivamente antes de entrar en calor. Los lechones fueron destetados a una edad de 16 a 22 días de edad y trasladados a un destete aislado a 50 millas de la granja fuente y 6 semanas después a una unidad de crecimiento/finalización a 45 millas de la unidad de destete y a 5 millas de la granja origen.

Animales centinelas de 8 a 21 días de edad libres del VEA fueron colocados con los animales segregados en las mismas unidades.

Todos los animales segregados así como los centinelas fueron sangrados a los 180 días de edad y fueron negativos a la presencia de anticuerpos contra el VEA y ningún signo clínico fue evidente.

A los animales que murieron en los sitios aislados se les practicó la necropsia y no se encontraron lesiones que sugirieran la presencia del VEA, y al realizarse pruebas de inmunofluorescencia resultaron negativas también. Cuatro

animales centinelas de 116 a 123 días de edad al ser tratados con dexametasona no diseminaron al VEA ni presentaron anticuerpos contra el VEA.

Geiger *et al.* (30) lograron erradicar la Rinitis Atrófica (RA) utilizando el método de ISOWEAN® en tres sitios de producción aislados distribuidos de la siguiente manera: sitio 1 formado por 3 unidades para 500 vientres cada uno en el cual se encuentran los animales reproductores y los lechones de 7 a 10 días de edad, en este sitio se vacuna a hembras y sementales contra las enfermedades con las cuales conviven normalmente además de medicar a las hembras antes del parto, a los lechones se les medica antes de ser trasladados al sitio 2. En el Sitio 2 se encuentran los animales destetados hasta la etapa de crecimiento (10 a 12 semanas de edad) aquí los animales siguen recibiendo medicación estratégica para después ser trasladados al sitio 3. En el sitio 3 se encuentran los animales en la etapa de finalización (12 semanas de edad hasta la edad a mercado) sin medicación.

Mensualmente se tomaban 30 muestras de secreciones nasales de diferentes animales del sitio 2, haciendo un total de 360 muestras, también se tomaban 20 muestras del sitio 3 por mes, haciendo un total de 212 muestras, 12 animales del sitio 3 fueron sacrificados para corroborar la presencia de lesiones y 225 fueron sometidos a un exámen de la cavidad nasal en rastro. En ambos sitios 2 y 3 se llevaba a cabo un monitoreo visual de daño en nariz y también se analizaron muestras de animales control en los tres sitios.

De las muestras recolectadas de secreciones nasales no se aisló a *Pasteurella multocida* toxigénica y algunos animales sometidos al exámen en rastro presentaron desviación del septum nasal, pero estos cambios no fueron lesiones típicas de RA.

Sonka (76) informa un caso en el cual una granja con el sistema de producción en tres sitios (ISOWEAN®) se vió afectada por la EA y para prevenir que el VEA pasara a los animales de crecimiento/finalización, se vacunó a las hembras 6 veces al año, se destetó a los 10 y 17 días de edad y el destete se llevaba a cabo una vez a la semana, mensualmente se monitoreaba a los cerdos

del sitio 3. Durante algún tiempo todo funcionó bien hasta que se encontraron a dos animales positivos a la presencia de anticuerpos contra el VEA en el sitio 3 y dos semanas después el número de animales positivos aumentó y estos presentaban tos.

Haciendo un estudio retrospectivo se encontró que los dos cerdos fueron compañeros de camada y estos a su vez fueron adoptados por otra hembra e incluidos en su camada la cual fue dividida para ser destetada (la edad final de destete para estos cerdos fue de 21 días).

El último hallazgo fue que la madre de ambos lechones era un hembra vieja, la cual estaba infectada por el VEA y ésta a su vez infectó a los lechones, los cuales infectaron a la camada de la hembra que los adoptó. Desafortunadamente el accidente no fue identificado hasta la etapa de finalización. Desde entonces varios cambios fueron hechos en la granja para evitar dicho tipo de accidentes, los cuales consistieron en:

a) Disminuir la edad al destete a 7 y 10 días y se destetó dos veces por semana.

b) No se permitió dividir los destetes, todos los lechones fueron destetados de acuerdo a la edad y no al tamaño de los animales.

c) Se hizo más presión al seleccionar a las hembras del hato reproductor evitando tener hembras viejas entre éstas.

Al aplicar los cambios se evitó que el virus lograra pasar del sitio 1 a los otros dos sin ser detectado, y se concluyó que el programa de vacunación en el sitio 1 fue la mejor opción para obtener animales libres del VEA.

Harris (34) demostró que tres sitios de producción (ISOWEAN®) es una excelente alternativa a la despoblación para obtener un elevado estado de salud, lo cual se apoya con un estudio realizado en un granja de 350 hembras, las cuales fueron infectadas por el VEA en Octubre de 1987. Antes del brote el 10 %

de los animales adultos fueron sangrados y resultaron negativos a la presencia de anticuerpos contra el VEA por medio de la prueba de SN y no habían sido administradas vacunas. Cuando el brote se dió se utilizó una vacuna de virus "activo" modificado para vacunar a todos los animales adultos. Para Marzo de 1988, se adoptó el método de destete aislado (ISOWEAN®) y se destetaron a los lechones a los 15 y 24 días de edad para ser trasladados a un segundo sitio localizado a 50 millas del primero en donde permanecían por un período de 6 semanas para después ser trasladados al sitio 3 localizado a 45 millas del segundo en donde permanecían hasta la edad para ser enviados al rastro. Utilizó también animales centinelas en el sitio 2, los cuales fueron introducidos cada 2 semanas. Tanto animales centinelas como los de línea (Isowean) fueron muestreados serológicamente hasta los 108 días de edad, en el área de finalización se obtuvieron 990 sueros de animales Isowean y 422 de animales centinelas en los cuales no se encontraron anticuerpos contra el VEA mediante la técnica de SN. Posteriormente 10 animales Isowean y 4 centinelas fueron puestos en unidades aisladas para ser estresados por medio de una inyección de dexametasona (3 mg/kg) por 5 días consecutivos, se hizo un monitoreo serológico por 27 días para detectar títulos de anticuerpos contra el VEA por medio de las técnicas de SN, ELISA y AL y de diseminación del VEA, observando que no hubo presencia de anticuerpos ni diseminación.

III JUSTIFICACION

Debido al alto riesgo que tiene la EA de infectar rápidamente, tanto a animales de la misma granja como a otras granjas, a la elevada mortalidad que causa, sobre todo en los más pequeños, y a los efectos secundarios que acompañan a su presentación, como síndromes respiratorios y entéricos que varían la ganancia diaria de peso y la conversión alimenticia, lo cual se traduce en importantes pérdidas económicas, se decidió elaborar un programa de vacunación y segregación mediante el uso de un sistema múltiple de tres sitios de producción para controlar y erradicar la EA en una granja con 2000 vientres.

IV OBJETIVOS

1) Por medio de la vacunación del pie de cría contra la EA y la segregación de la descendencia, se pretende controlar y erradicar dicha enfermedad en un sistema múltiple de tres sitios de producción.

2) Hacer una valoración lineal epidemiológica de los tres sitios de producción por medio de animales centinelas libres de la EA.

V HIPOTESIS

1) El control y erradicación de la EA es posible mediante el uso y aplicación de medidas de inmunización y segregación en un sistema múltiple de producción.

2) La prevalencia de la EA es significativamente menor con tendencia a desaparecer conforme se realiza la segregación en tres sitios de producción.

VI MATERIAL Y METODOS

La investigación se llevó a cabo en una granja porcina con 2000 vientres, localizada en el estado de Jalisco.

El estado de Jalisco, al noreste se encuentra a una altura promedio sobre el nivel del mar de 1750 m. Posee un clima semiseco, el otoño, invierno y primavera son secos, la temperatura anual es de 19 C, con una máxima anual de entre 26 C y 30 C y una mínima anual de entre 8 y 12 C. Mayo es el mes más cálido con una temperatura máxima de 30 - 34 C y una mínima de 12 - 18 C. Enero es el mes más frío con una temperatura máxima de 18 - 22 C y una mínima de 4 - 8 C. Durante todo el año se presentan de 10 a 25 días de heladas.

La humedad relativa anual es de 55 a 65 % y la precipitación media anual es de 715.2 mm. Los meses de lluvia son de junio a septiembre (6,45)

La granja opera bajo el sistema de ISOWEAN® en tres sitios de producción aislados, entre cada sitio existen 15 kilómetros de distancia aproximadamente.

CARACTERISTICAS DE LOS SITIOS

SITIO 1

Está ocupado por el hato reproductor y los lechones desde que nacen hasta los 5.2 kg de peso promedio. Posee un edificio para adaptación, 2 edificios para servicio, 2 edificios para animales en gestación y 32 casetas de maternidad con 24 jaulas cada una.

El sitio está bien delimitado por una barda perimetral. Cuenta con instalaciones tecnificadas y está compuesto por las áreas de servicios, gestación y maternidad. Existe una oficina, baños y fosa de fermentación.

Trabajadores y médicos del sitio deben bañarse tanto al ingresar como al salir y visten ropa propia del lugar, en ocasiones ésta es de un solo uso (desechable).

El sitio opera bajo el sistema todo-dentro/todo-fuera. Posee un sistema de alimentación automatizado y las tolvas que distribuyen el alimento a las casetas se encuentran al nivel de la barda perimetral para ser llenadas por fuera de la misma, esto es que el camión abastece de alimento a la granja por fuera.

Los lechones al ser destetados (a los 21 días de edad como máximo) son recogidos por un camión con características especiales, por fuera de la malla perimetral para ser trasladados al Sitio 2, esto es que el camión que los recoge no entra por los animales sino que los animales son llevados al camión. El destete se lleva a cabo dos veces a la semana y éste se hace de acuerdo a la edad de los animales y no al tamaño.

Como rutina se llevan a cabo muestreos serológicos de los animales reproductores y se realizan necropsias de todo animal que muere en el sitio.

SITIO 2

Se encuentra ocupado por los lechones destetados de 5.2 a 30 kg de peso promedio y el tiempo de permanencia es de 12 semanas. Cuenta con instalaciones tecnificadas e incluye la etapa de desarrollo. Posee 32 casetas, cada una con capacidad para 320 animales.

El sitio está bien delimitado por una barda perimetral, al igual que en el 1 el camión no ingresa al lugar para dejar a los lechones, sino que éstos son recibidos por una parte de la malla perimetral designada para dicho propósito. Posee una pequeña oficina, baños y fosa de fermentación.

Los trabajadores y el médico deben bañarse tanto al ingresar al lugar como al salir de él y en el interior visten ropa propia del mismo.

Este sitio opera bajo el sistema todo-dentro/todo-fuera. Posee un sistema de alimentación automatizado y las tolvas que distribuyen el alimento a las unidades se encuentran al nivel de la malla perimetral para facilitar su llenado sin que el camión ingrese al interior.

Cuando finaliza el tiempo de estancia de los animales en este lugar, son recogidos por vehículos designados exclusivamente para este propósito y son transportados hacia el sitio 3.

En este sitio se llevan a cabo muestreos serológicos de rutina y a todo animal que muere se le realiza la necropsia. La salida de animales se hace una vez a la semana.

SITIO 3

El sitio 3 posee 8 edificios con capacidad para 900 animales cada uno, en éste se albergan animales mayores de 30 kg de peso hasta que son enviados al rastro (tiempo de estancia 2 meses), con un peso promedio de 100 kg de peso y con 165 días de edad aproximadamente. Sólo incluye la etapa de finalización.

Es importante señalar que los vehículos son exclusivos para cada sitio, esto es que aquellos vehículos que son usados para el transporte de lechones, sólo son usados para dicho objetivo y vehículos que transportan alimento para el sitio 1 y de igual manera se hace para los sitios 2 y 3.

ANIMALES EXPERIMENTALES

Se utilizaron animales libres de la EA y seronegativos como centinelas por sitio.

ANTECEDENTES DE LA GRANJA

La granja se vió afectada por la EA en el mes de junio de 1993. El brote se caracterizó por la presencia de fiebre y abortos en hembras gestantes (último tercio de la gestación) y hembras repetidoras, lo cual afectó la fertilidad de la granja. Se presentaron signos nerviosos y elevada mortalidad en los lechones y problemas respiratorios en los animales del área de finalización.

Se realizaron necropsias de los lechones muertos y de aquellos que presentaban signos nerviosos y se enviaron muestras al laboratorio de diagnóstico (encéfalo y fetos abortados) para realizar el aislamiento del agente etiológico, aplicarles la técnica de inmunofluorescencia así como pruebas histopatológicas, con las cuales se confirmó el brote de la EA.

Se sangraron animales adultos en el mes de junio de 1993 cuando se estaban presentando los signos clínicos, para realizar la técnica serológica de SN para confirmar la presencia de anticuerpos contra el VEA y realizar su titulación.

Una vez establecido el diagnóstico clínico y de laboratorio se elaboró un programa para controlar de inmediato la enfermedad y posteriormente erradicarla del sistema, dicho programa consistió en:

1.- Se medicó al pie de cría vía alimento con los antibióticos Tiamulina y Oxitetraciclina a 100 + 300 partes por millón respectivamente, por dos semanas para dar cobertura a problemas entéricos y respiratorios, ya que la infección por el VEA produce inmunosupresión.

2.- Se inmunizó al pie de cría con una vacuna de virus inactivado con deleción gl contra el VEA cepa Philaxia al momento del brote, repitiéndose la vacunación 21 días después.

3.- Se mantuvo la vacunación de todo el hato durante un año cada tres meses, con la finalidad de limitar la propagación del virus y evitar la presencia de animales no vacunados.

Esto se realizó durante el primer año del brote para después pasar al siguiente programa, el cual consistió en vacunar a las hembras y sementales cada cuatro meses, ya que existía la posibilidad de que hembras vacías o repetidoras quedaran sin vacunar, en las que el virus se pudiera replicar, por lo que se tuvo cuidado de que toda hembra fuera inmunizada.

4.- Al corroborarse la presencia del VEA en el sitio 1, se introdujeron animales de reemplazo (hembras y machos) para después mantener a la granja cerrada por un período de 6 meses para favorecer el control y eliminación del VEA y evitar su replicación.

5.- Cuando se originó el brote, los lechones con un máximo de 21 días de edad (de 5.2 kg de peso promedio) fueron enviados a una granja vacía ajena al sistema, pero cuando se controló el brote y desaparecieron los signos clínicos del sitio 1 se inició la segregación hacia el sitio 2 (posteriormente, a todo animal de cualquiera de los tres sitios que mostró signos nerviosos se les sangró y se les realizó la necropsia para tomar y enviar muestras de órganos al laboratorio de diagnóstico).

6.- Con los animales segregados del sitio 1 después de desaparecidos los signos clínicos, se inició la población del sitio 2, el cual era previamente lavado y desinfectado. Se pusieron además 70 animales centinelas junto con los animales de línea en cada uno de los sitios, los cuales provenían de una granja libre de la EA y negativa a signos clínicos y a serología, con un peso promedio de 20 kg.

7.- Mensualmente se sangraron los animales centinelas por un período aproximado de 12 semanas que es el tiempo de permanencia en el sitio 2, para después ser movidos al sitio 3 el cual era previamente lavado y desinfectado con cloro al 3 % y cuaternarios de amonio, productos a los cuales el VEA es altamente sensible.

8.- Durante la estancia de los animales centinelas en el sitio 3 se siguieron muestreando mensualmente hasta que fueron enviados al rastro.

9.- Una vez que el sitio 2 y el sitio 3 se consideraron negativos a la presencia del VEA, se procedió al envío de muestras de suero de animales correspondientes al 10% de la población en ese momento, las cuales fueron trabajadas con la técnica de ELISA competitiva gl+ en un laboratorio aprobado por la SAGAR para el apoyo de la Campaña Nacional contra la EA, para obtener el certificado de granja libre de la EA

MUESTRAS DE ENVIO

a) Para la detección de anticuerpos contra el VEA se recolectaron muestras de sangre sin anticoagulante en tubos vacutainer para obtener el suero sanguíneo. Estos fueron enviados al laboratorio de diagnóstico en condiciones de refrigeración a las 24 horas después de ser recolectada la muestra.

b) Periódicamente se enviaron al laboratorio de diagnóstico muestras de órganos (tonsilas, encéfalos y pulmón en frascos con formol o congelados según fuera la técnica de diagnóstico requerida) de los animales que mostraron signos nerviosos, las cuales fueron trabajadas mediante las técnicas de inmunofluorescencia e histopatología, y se intentó también realizar el aislamiento viral para corroborar la presencia o ausencia del VEA.

TECNICAS SEROLOGICAS UTILIZADAS

La presencia de anticuerpos contra el VEA en el suero fueron determinados por medio de las técnicas de SN y ELISA competitiva gl+ contra la glicoproteína gl del VEA.

La técnica de ELISA competitiva gl+ se realizó de acuerdo al manual del "kit" para la detección de anticuerpos frente al antígeno gpl del VEA (HerdCheck Anti ADV gl IDEXX, Laboratories, Inc. Maine, USA).

Reactivos

1.- Placas adsorbidas con el VEA. Las placas cuentan con 96 pozos de los cuales, los pozos A1 y A2 fueron utilizados para el blanco, los pozos B1 y B2 para el control positivo y los pozos C1 y C2 para el control negativo.

2.- Anticuerpos monoclonales anti-gI del VEA conjugado con peroxidasa de rábano macho.

3.- Suero control negativo (suero porcino que no reacciona frente al antígeno gpl)

4.- Suero control positivo (suero porcino que reacciona frente al antígeno gpl).

5.- Diluyente para las muestras (Buffer con estabilizantes protéicos)

6.- Tetrametilbenzidina concentrada (TMB).

7.- Diluyente para el TMB.

8.- Solución de lavado.

9.- Solución de frenado.

Metodología

1.- Para realizar la prueba se tomaron 50 μ l de suero y 50 μ l de diluyente.

2.- Se dispensaron 100 μ l del suero control negativo y del suero control positivo sin diluir en los pozos señalados.

3.- En los pozos restantes se pusieron 100 μ l de la muestra diluida.

4.- Se mantuvo durante 1 hora a temperatura ambiente.

5.- Se realizaron 3 lavados de la placa con la solución de lavado.

6.- Se agregó a todos los pozos 100 μ l del conjugado anti-gI.

7.- Se mantuvo 20 minutos a temperatura ambiente.

8.- Se realizaron 3 lavados de la placa con la solución de lavado.

9.- Se agregó a todos los pozos 100 μ l de solución de TMB.

10.- Se mantuvo durante 15 minutos a temperatura ambiente.

11.- Se agregaron 50 μ l de solución de frenado a cada pozo para parar la reacción.

12.- Se realizó la lectura en un lector de ELISA con longitud de onda de 650 nm.

13.- Los cálculos se realizaron tomando en cuenta la densidad óptica con respecto a los sueros control negativo y positivo para cada suero problema.

Fórmulas

a) Cálculo de la media de control positivo (PCX)

$$PCX = \frac{B1 + B2}{2}$$

b) Cálculo de la media de control negativo (NCX)

$$NCX = \frac{C1 + C2}{2}$$

c) Cálculo de inhibición %

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{NCX - \text{muestra}}{NCX} \times 100$$

Interpretación de los resultados

Cuando el porcentaje de inhibición fue mayor o igual al 40 % la muestra se clasificó como positiva. Cuando el porcentaje resultó mayor o igual al 30 % pero menor que el 40 % la muestra se clasificó como sospechosa y cuando este porcentaje fue menor que el 30 % la muestra se clasificó como negativa.

Seroneutralización

Para la realización de esta técnica se utilizó el método beta, el cual consiste en hacer diluciones del suero y se le agrega un volumen igual de virus constante.

Material

- 1.- Virus de la enfermedad de Aujeszky cepa Shope.
- 2.- Suero de cerdos problema.
- 3.- Sueros control positivo con título conocido y negativo.
- 4.- Placas de cultivos celulares con el monoestrato de la línea celular de riñón de cerdo (PK15).
- 5.- Medio Eagle con suero fetal de bovino al 10 %
- 6.- Medio Eagle sin suero fetal de bovino como diluyente

Procedimiento

- 1.- Se preparan diluciones dobles del suero de 1:2 a 1:256 con el medio sin suero como diluyente.
- 2.- Se mezclan las diluciones del suero con 50 μ l de virus constante en toda la placa y se incuba durante una hora a temperatura ambiente.
- 3.- A las placas en las cuales se encuentra el monoestrato celular se les quita el medio de crecimiento y se les agrega la mezcla virus suero y se les adiciona más medio sin suero.
- 4.- Pozos controles. Para el suero positivo y negativo, para el virus y para células.
- 5.- Las placas son leídas a las 72 horas para observar el efecto citopatogénico.

Interpretación

Se dá como concluida la técnica cuando se observa el máximo efecto citopático en los pozos controles.

MUESTREOS

SITIO 1

Antes de que ocurriera el brote se llevaban a cabo muestreos serológicos de rutina y se realizaban necropsias de todo animal que moría, lo cual permitió detectar la presencia del VEA de forma rápida. Esta medida preventiva se sigue llevando a cabo, aún después del brote.

Los muestreos totales realizados después del brote fueron 4 con intervalos de 2 y 3 meses entre muestreos, haciendo un total de 44 muestras de suero, las cuales fueron trabajadas mediante la técnica de SN en el laboratorio de diagnóstico del Departamento de Producción Animal: Cerdos (DPA:C) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) (Figura 1).

También se obtuvieron muestras de encéfalo de lechones que presentaron signos nerviosos antes de morir, a los cuales se les aplicó la técnica de inmunofluorescencia y el examen histopatológico.

SITIO 2

Los muestreos totales realizados después del brote fueron 5 con intervalos de 1 mes, haciendo un total de 119 muestras de suero sanguíneo, las cuales fueron trabajadas mediante las técnicas de SN y ELISA competitiva gl+ en el Laboratorio de Diagnóstico del DPA:C de la FMVZ de la UNAM (Figura 2).

SITIO 3

Se realizaron 6 muestreos después del brote con intervalos de 1 a 2 meses haciendo un total de 1226 muestras de las cuales 179 fueron trabajadas por la técnica de SN en el Laboratorio de Diagnóstico del DPA:C de la FMVZ de la UNAM, las muestras restantes fueron tomadas en dos muestreos de 530 y 517 muestras respectivamente las cuales se trabajaron por la técnica de ELISA

competitiva gl+ en un Laboratorio de Diagnóstico aprobado por la SAGAR para el apoyo a la Campaña Nacional contra la Enfermedad de Aujeszky (Figura 3).

VII RESULTADOS

En los cuadros 14 y 15 se muestran los porcentajes de seropositividad durante y después del brote, por sitio, respectivamente.

En el cuadro 14 se puede apreciar como al momento que se dá el brote la seropositividad en los sitios 1 y 2 es del 100 % y para el sitio 3 de 89.65 %, lo cual indica la clara presencia del VEA en el sistema.

En el Cuadro 15 se observa que después del brote la seroprevalencia en el sitio 1 se mantiene en un 100 %, y en el sitio 2 se presenta una seroprevalencia del 0.99 % dado por una muestra positiva por la técnica de ELISA competitiva gl+ pero negativa por la técnica de SN y en el sitio 3 se obtuvieron negativas todas las muestras de animales centinelas y de línea.

En el Cuadro 16 se desglosan las muestras obtenidas por muestreo con sus respectivos porcentajes de seropositividad en el sitio 1.

Puede observarse que antes del mes de mayo de 1993 la granja era libre a la EA y para el mes de agosto de 1993 la presencia del VEA fue evidente en el sitio ya que de tener 0 % de seropositividad a la presencia de anticuerpos contra el VEA pasa a un 100 % de seropositividad, para mantenerse así hasta el mes de mayo del siguiente año.

En el sitio 1 se obtuvieron títulos de anticuerpos por la técnica de SN que iban de 1:8 hasta 1:256. En los encéfalos de lechones enviados al laboratorio de diagnóstico se detectó la presencia del VEA por la técnica de IF y en el exámen histopatológico se encontró encefalitis no supurativa difusa lo cual confirmó de manera definitiva la presencia del VEA.

En el Cuadro 17 se presentan los resultados de los sueros obtenidos por muestreo con sus respectivos porcentajes de seropositividad en el sitio 2.

Se puede observar como desde el primer muestreo realizado en el mes de octubre de 1993 a los animales centinelas después del brote se obtuvieron resultados negativos a la presencia de anticuerpos contra el VEA, manteniéndose igual para el segundo muestreo realizado en los mismos animales, al mismo tiempo en este muestreo se incluyeron animales de línea de 8 semanas de edad los cuales presentaron anticuerpos contra el VEA, lo que indicó la presencia de anticuerpos maternos; ya que dichos animales no volvieron a presentar anticuerpos en muestreos posteriores.

En el tercero, cuarto y quinto muestreos realizados también a animales centinelas y de línea resultaron negativos a la presencia de anticuerpos contra el VEA por ambas técnicas excepto para una muestra que resultó positiva mediante la técnica de ELISA competitiva gl+ pero negativa mediante la técnica de SN. No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre ambas técnicas de diagnóstico ($P < 0.05$) por la técnica de ji-cuadrada (81).

En el Cuadro 18 se presentan los porcentajes de seropositividad en el sitio 3 y se observa que desde el primer muestreo realizado en enero de 1994 en animales centinelas y de línea segregados del sitio 2 se obtuvieron resultados negativos a la presencia de anticuerpos contra el VEA mostrando 0 % de seropositividad, para mantenerse así hasta el sexto muestreo realizado en el mes de septiembre del mismo año.

En este sitio se llevaron a cabo dos muestreos del 10 % de la población, el primero con 530 muestras realizado en el mes de marzo de 1994 y el segundo con 517 muestras en septiembre de 1994, las cuales resultaron negativas a la presencia de anticuerpos contra el VEA mediante la técnica de ELISA competitiva gl+. Estos resultados fueron remitidos por un laboratorio aprobado por la SAGAR para apoyar la Campaña Nacional contra la Enfermedad de Aujeszky.

VIII DISCUSION Y CONCLUSIONES

Los sistemas de tres sitios y múltiples sitios de producción consisten en la separación de la cadena de producción, lo que disminuye el riesgo de una transmisión del VEA ya sea vertical u horizontalmente.

Este sistema de producción ha sido adoptado en numerosos países del mundo, incluyendo a México en donde está siendo utilizado en grandes productores con resultados satisfactorios, como se puede observar en los resultados obtenidos en el presente trabajo.

Sitio 1

Durante los primeros muestreos serológicos de rutina realizados desde el mes de noviembre de 1992 a mayo de 1993, todas las muestras de suero resultaron negativas a la presencia de anticuerpos contra el VEA, lo cual indicó la ausencia del virus de campo en el sistema; sin embargo para el mes de junio de 1993 se empezaron a manifestar signos clínicos en los animales del hato reproductor, así como en su descendencia, lo cual hizo suponer la presencia de un problema infeccioso pues estaba provocando efectos reproductivos en el hato, así como mortalidad en los lechones con signos nerviosos.

Las muestras de suero fueron trabajadas por la técnica de SN, ya que a dicha prueba se le considera de referencia para el diagnóstico de la EA (78).

Para el primer muestreo posterior al brote se observa claramente que el VEA está establecido en el sitio 1 pues los resultados obtenidos de las muestras serológicas mostraron un 100 % de seropositividad por lo que los lechones al ser destetados a los 21 días de edad promedio para ser trasladados al sitio 2 pudieron llevarlo consigo. Dicho porcentaje de seropositividad se mantuvo en 100 % en los muestreos subsecuentes al brote; lo cual indicó el establecimiento definitivo del VEA en el sitio, causando problemas reproductivos y mortalidad de

lechones, lo cual se detuvo después de implantar el programa de medicación y vacunación que se aplicó a los animales del hato reproductor

Dicho calendario de inmunización consistió en la vacunación de los animales del pie de cría con una vacuna de virus inactivado con delección g1 para detener de esta manera la manifestación de signos clínicos, además de proporcionar una reducción en la diseminación del VEA tanto como fuera posible para evitar mayores pérdidas económicas. Dicho procedimiento concuerda con lo hecho por Engel *et al.* (28) quienes mediante el uso de un programa de vacunación con una vacuna de virus inactivado g1 (-) aplicada a todos los animales de reemplazo antes de ingresar a la granja, lograron la erradicación de la EA en una granja afectada por el VEA. Y por otro lado Sonka (76) concluye que un programa de vacunación de los animales del pie de cría en el sitio 1 es la mejor opción para obtener animales libres del VEA de una granja con el sistema de producción en tres sitios (ISOWEAN) que se vió afectada por la EA; dichas conclusiones concuerdan con las obtenidas en el presente trabajo.

En cuanto a la edad de destete de los lechones para ser segregados hacia el sitio 2 se tiene que ésta fue disminuida de 21, a 18 días de edad como máximo, pues se sabe que los lechones pueden ser infectados por el VEA rebasando esta edad (2,33,36) por lo que se procedió a destetar a los lechones 2 veces a la semana, dicho procedimiento concuerda por lo hecho por Sonka (76) y Hammer (32) en una granja con el sistema de producción en tres sitios (ISOWEAN) que se vió afectada por la EA, en la cual se disminuyó el destete a los 7 y 10 días de edad, realizándose 2 veces por semana. Así mismo, Harris *et al.*(34,35) en un sistema de producción en tres sitios para obtener un elevado estado de salud recomienda que la edad de los lechones al destete debe ser de 15 a 24 días, y para obtener animales reproductores libres del VEA en un sistema con las mismas características recomienda el destete a la edad de 16 a 22 días.

Debido a que no se pudo determinar de que manera ingresó el VEA al sitio 1, se introdujeron animales de reemplazo para cubrir un período de 6 meses a los cuales se les vacunó contra la EA en dos ocasiones con un intervalo de 21 días para evitar la replicación del VEA en el sitio. Sin embargo no sólo se sospechó de

animales de reemplazo del sitio pues al estar localizado el sistema en una zona endémica el VEA pudo haber ingresado ya sea horizontalmente, mecánicamente o por medio del aire o por aves, ya que estas formas de transmisión han sido comprobadas (10,77,91).

Sitio 2

En el sistema, el sitio 2 se encuentra aislado aproximadamente a 15 kilómetros del sitio 1, distancia que se considera suficiente para evitar la transmisión del VEA de un Sitio a otro por los resultados obtenidos en el presente trabajo. Dicho procedimiento concuerda por lo hecho por Harris *et al.* (35) quienes en un sistema de producción ISOWEAN alojan a los lechones a 80 km de distancia del Sitio 1 para evitar la transmisión del VEA.

En este sitio se llevaron a cabo muestreos serológicos mensuales de animales de línea y centinelas, procedimiento que concuerda por lo hecho por Geiger *et al.* (30) quienes lograron erradicar la enfermedad de rinitis atrófica utilizando el método de ISOWEAN; y para ello mensualmente recolectaban muestras de secreciones nasales de diferentes animales.

En cuanto a los estudios realizados para obtener animales reproductores libres del VEA, para obtener un elevado estado de salud así como para la eliminación de la EA utilizando el destete aislado, se tiene que Harris *et al.*(34,35), Hammer (32) y Geiger *et al.* (31) utilizaron animales centinelas libres de la EA a partir del Sitio 2 los cuales convivieron con los animales de línea; dicho procedimiento concuerda con lo realizado en el presente trabajo. Es importante señalar que a los animales centinelas se les hizo un seguimiento serológico durante su estancia en los sitios 2 y 3 pero no se les sometió a ninguna prueba de estrés antes de ser enviados al rastro; sin embargo durante su convivencia con los animales de línea no hubo problemas que hicieran suponer la presencia del VEA en el sistema.

En cuanto al muestreo realizado a animales de línea de 8 semanas de edad, los cuales presentaron anticuerpos contra el VEA; se tiene que debido a la

edad de estos y a que los animales centinelas resultaron seronegativos por las técnicas de SN y ELISA competitiva gl+, esto indicó la presencia de anticuerpos maternos dados por inmunidad pasiva a los lechones; pues es ya sabido que los anticuerpos contra el VEA presentes en el suero tienen una vida de hasta 16 semanas, lo que indicó que el virus no circulaba (27,43,44,77,91).

En el muestreo realizado a animales centinelas en el cual se reportó una muestra positiva por la técnica de ELISA competitiva gl+; se concluye que esto se pudo deber a la alta sensibilidad que tiene esta prueba; al mismo tiempo dicha muestra resultó negativa por la técnica de SN, que como ya se mencionó es la técnica de referencia para el diagnóstico de la EA; por lo que la muestra se tomó como negativa al interpretar los resultados. Es importante tener en mente que la presencia de un resultado serológico positivo en un lugar donde se están llevando a cabo procedimientos para la erradicación de la EA puede ser posible, como el obtenido en el presente trabajo, además existen informes de la obtención de resultados positivos en animales centinelas, que en muestreos posteriores resultan negativos a serología, como se puede observar en el estudio realizado por Hammer (32) quien utilizó el sistema de tres sitios de producción para eliminar la EA en un hato finalizador. El autor informa que en el muestreo de un grupo de animales centinelas de 8 semanas de edad se obtuvieron 2 animales positivos a SN con títulos de 1:8, sin embargo en el siguiente muestreo serológico realizado varias semanas después a los mismos animales, estos fueron negativos a la presencia de anticuerpos contra el VEA.

Por otro lado, si este animal verdaderamente hubiera estado en contacto con el VEA de campo, la enfermedad se hubiera manifestado y difundido en los demás, puesto que se trataba de animales susceptible, pues estos estaban próximos a ser movidos al sitio 3 con una edad de 4 meses.

Se tiene también que al no encontrar diferencia estadísticamente significativa entre las técnicas de ELISA competitiva gl+ y SN por la prueba de ji-cuadrada (81) éstas pueden ser utilizadas conjuntamente para programas de erradicación de la EA lo cual concuerda con lo reportado por Ramírez y cols. (66) quienes informan una correlación del 87.58 % entre dichas técnicas.

Sitio 3

La distancia por la que se encuentran separados el sitio 2 del tres es de 15 km, lo cual concuerda con lo hecho por Harris *et al.* (34,35) quienes para obtener animales libres del VEA, además de un elevado estado de salud en el sistema, separa a los sitios 2 y 3 con una distancia de 70 km. Es importante observar la diferencia de distancias usadas por Harris y las utilizadas en el presente trabajo; sin embargo en el presente trabajo se pudo comprobar que la distancia de 15 km entre sitios es suficiente para evitar la transmisión del VEA de un sitio a otro ya que después de controlado el brote en el sitio 1 y de iniciada la segregación no hubo problemas de la enfermedad en los sitios 2 y 3.

En este sitio también se utilizaron animales centinelas como en el sitio 2, de hecho estos fueron los mismos animales que estuvieron en el sitio 2; mismos que no presentaron en ningún momento de su estancia en el sistema anticuerpos contra el VEA hasta el momento de ser enviados a rastro, lo cual corroboró la ausencia del agente causal de la EA. Aunado a esto se contó también con 1047 resultados negativos de animales de línea próximos a salir al rastro, y ya que estos resultados fueron emitidos por Laboratorios aprobados por la SAGAR para el apoyo a la Campaña Nacional contra la EA se logró demostrar que la EA fue erradicada de ambos sitios.

Con base en los resultados y la discusión antes expuestos se concluye que las técnicas de SN y ELISA competitiva gl+ utilizadas conjuntamente para el diagnóstico del VEA, así como para estudios seroepidemiológicos del mismo son una valiosa herramienta para el control y erradicación de la EA en un sistema múltiple de tres sitios de producción.

Se concluye además que un programa de control realizado principalmente a base de inmunización de los animales del hato reproductor con una vacuna a base de virus inactivado con deleción gl aplicada a intervalos de 21 días inmediato al brote y posteriormente cada 3 meses durante un año, así como el

uso de antibióticos fue una medida adecuada para detener la replicación del VEA en el sitio 1.

En relación a la segregación de animales destetados a edad temprana (18 días) en unidades aisladas por una distancia de 15 km, proporcionan la garantía de erradicar al VEA en un sistema de tres sitios y múltiples sitios de producción. Lo anterior se explica, porque al separar en unidades aisladas las diferentes etapas de producción de los animales, las enfermedades en estos tienden a ser localizadas; lo que nos permite usar métodos estratégicos de inmunización, y al mismo tiempo evitar la transmisión horizontal de la EA.

Además el sistema de tres sitios y múltiples sitios de producción resulta ser una excelente alternativa a los métodos de prueba y eliminación y despoblación-repoblación para la eliminación del VEA, pues para conseguir esto no se tiene que hacer la despoblación total del sistema, ya que si uno de los sitios llegara a infectarse con el VEA, esto permite hacer una despoblación parcial en cualquier momento.

IX LITERATURA CITADA

1. Alexander, T.J.L. and Thorton, G.B.: Medicated early weaning to obtain pigs free from pathogens endemic in the herd of origin. Vet. Rec., 106: 114 -119 (1980).
2. Alexander, T.J.L. and Harris, D.L.: Methods of Disease control. In diseases of swine. 7th. ed. Edited by Leman, A.D. Iowa State University Press Ames Iowa USA 1992.
3. Alzina, A., Gomez, M., Rodríguez, J., Villegas, S. y Alvarez, M.: Control de la enfermedad de Aujeszky mediante el uso de vacunación gl (-) en una granja infectada. XXVII Congreso Nacional AMVEC Acapulco, Gro. 224 - 225. AMVEC Acapulco, Gro. (1992).
4. Andersen, J.B.: Aerosol spread between herds. First International Symposium on the eradication of Pseudorabies (Aujeszky's) virus. University of Minnesota College of Veterinary Medicine. St. Paul, Minnesota United States (1991).
5. Anelli, J.F., Morrison, R.B., Goyal, S.M., Bergeland, M.E. and Macke, W.J.: Pig herds having a single reactor to serum antibody tests to Aujeszky's disease virus. Vet. Rec., 128: 49 -53 (1991).
6. Atlas Nacional de México. Instituto de Geografía UNAM México, (1990).
7. Baekbo, P.: Eradicating respiratory disease. Pigs special. 33 - 34 (1995)
8. Benito, V.R.: Tres sitios: una nueva tecnología presente en México. Memorias del XXVII Congreso Nacional AMVEC Acapulco, Gro. 170 - 173. AMVEC Acapulco, Gro. (1992).

9. Beran, G.W. and Murphy, D.P.: Survival of Pseudorabies virus in aerosol. Am. J. Vet. Res. 51 (3): 331 - 333 (1990).

10. Beran, G.W.: Survival of Pseudorabies virus outside the living host. First International Symposium on the eradication of Pseudorabies (Aujeszky's) virus. University of Minnesota College of Veterinary Medicine. St. Paul, Minnesota United States (1991).

11. Botner, A.: Survival of Aujeszky's disease virus in slurry at various temperatures. Veterinary Microbiology. 29: 225 - 235 (1991).

12. Campos, M.E. y Cañedo, P.A.L.: Prevalencia del virus de Aujeszky y su excreción a través del eyaculado de sementales, así como su importancia epidemiológica y económica. Memorias del XXVIII Congreso Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Cerdos AMVEC 93 Cancún Q. Roo. México 100 - 102. AMVEC Cancún Quintana Roo. (1993).

13. Castro, G.D.A.: Evaluación epidemiológica de un programa modelo de control y erradicación de la enfermedad de Aujeszky en una granja porcina de 500 hembras. Tesis de maestría. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM (1990).

14. Castro, G.: ISOWEAN multi - sitios. Seventh PIC International Seminar. PIC Des Moines, Iowa United States of North America. 152 - 166 (1995).

15. Ciprian, C.A. y Hernández, B.E.: Infecciones mixtas y vacunas. Memorias del Symposium sobre enfermedades del cerdo con implicaciones en el comercio internacional. Editado por Morilla, A. y López A. (1 - 6) México, D.F. (1992).

16. Coj, L.J.M.: Perfil serológico contra la enfermedad de Aujeszky en una granja porcina donde se aplica una vacuna con delección de la glicoproteína G1.

Tesis de licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM (1993).

17. Connor, J.F.: Aujeszky's disease eliminating programs. First International Symposium on the eradication of Pseudorabies (Aujeszky's) virus. University of Minnesota College of Veterinary Medicine. St. Paul, Minnesota United States (1991).

18. Connor, J.F.: Efective technologies for improving the health performance of nursery piglets. XXX Congreso Nacional AMVEC Manzanillo Colima. 70 - 71. AMVEC. Manzanillo; Col. (1995).

19. Correa, G.P.: Pseudorrabia. En avances en Enfermedades del cerdo, 1985. Editado por Morilla, A., Correa, P. y Stephano A. México, (1985).

20. Cuaron, I.J.A.: Las enfermedades son un problema de manejo. En avances en enfermedades del cerdo, 1985. Editado por Morilla, A., Correa, P. y Stephano A. México, (1985).

21. Cuevas, R.S., Guzmán, H.M., Alvarado, I.A., Sánchez, M.P., Colmenares, V.G., Hernández - Baumgarten, C.E., Pérez, Gd.E.: Evaluación de los métodos DOT- ELISA y Seroneutralización para el diagnóstico de la enfermedad de Aujeszky en cerdos. XXX Congreso Nacional AMVEC Manzanillo Colima. 70 - 71. AMVEC. Manzanillo; Col. (1995).

22. Dee, S.: Competitive Production Systems. Minnesota Swine Conference for Veterinarians. 93 (1993).

23. Derratos, V.J., Pujols, R.J., Badiola, S.I., Pérez, R.A., González, G.S., Mendoza, E.S., Hernández, B.E. y Ciprian, C.A.: Bases para el control y la erradicación de la enfermedad de Aujeszky en México y otros países. Porcira, 13(13); 38 - 58 (1990).

24. Dinter, Z.: Diagnostic Virology. In a review of methods at the National Veterinary Institute. Edited by J. Moreno López. Swedish University of Agricultural Sciences National Veterinary Institute. Uppsala, Sweden (1989).

25. Doporto, D.J.M.: Sistemas de control de enfermedades en explotaciones porcinas. Memorias de la 1a. Jornada Porcina. 140 - 142 UNAM México, D.F. (1994).

26. Egger, W. and Visser, .: Revisión de aspectos selectos de la enfermedad de Aujeszky. Memorias de la 1ra. Jornada Porcina. 1 - 9 UNAM México, D.F. (1994).

27. Egger, W.: Avances en la prevención y el control de la enfermedad de Aujeszky. Comunicación personal (1994).

28. Engel, M. and Wierup, M.: Vaccination and eradication programme against Aujeszky's disease in Sweden, based on a g1 ELISA test. Vet. Rec., 125: 236 - 237 (1989).

29. Fuentes, M.: Pruebas de laboratorio para el diagnóstico de la enfermedad de Aujeszky (Pseudorabia). Memorias del curso sobre actualización de enfermedades virales del cerdo. 32 -36 AMVEC México, D.F. (1989).

30. Geiger, J.O., Harris, D.L., Edgerton, S.L., Jackson, W., Kinyon, J.M., Glock, R.D., Connor, J.F. and Houx, D.E.: Elimination of Atrophic Rhinitis utilizing ISOWEN (sm) three - site production. Proceeding 11th Congress International Pig Veterinary Society Lausanne, Switzerland 1990. 374 IPVS (1990).

31. Geiger, J.O. and Harris, D.L.: Elimination of Pseudorabies virus from three herds utilizing isolated weaning (ISOWEAN). First International Symposium on the eradication of Pseudorabies (Aujeszky's) virus. University of Minnesota College of Veterinary Medicine. St. Paul, Minnesota United States (1991).

32. Hammer, J.M.: Use of three - site production to consistently eliminate Pseudorabies from the finishing herd. First International Symposium on the eradication of Pseudorabies (Aujeszky's) virus. University of Minnesota College of Veterinary Medicine. St. Paul, Minnesota United States (1991).

33. Harris, D.L.: Alternative approaches to eliminating endemic diseases and improving performance of pigs. Vet. Rec., 123: 422 - 423 (1988).

34. Harris, D.L.: The use of Isowean (sm) 3 site production to upgrade health status. Proceeding 11th Congress International Pig Veterinary Society Lausanne, 1990. 374 IPVS Switzerland (1990).

35. Harris, D.L., Armbrecht, P.J., Wiseman, B.S., Paltt, K.B., Hill, H.T. and Anderson, L.A.: Producing Pseudorabies - free breeding stock. Modern Veterinary Practice, 74: 52 (1993).

36. Harris, D.L.: Application of age - segregated rearing in One and Multiple Site Pig Farms. Memorias 1era. Jornada en Producción Porcina. México. 114 - 139. UNAM, México, D.F. (1994).

37. Iglesias, S.G.: Estudio comparativo de la virulencia de dos cepas del virus de la Enfermedad de Aujeszky. Vet. Mex., 18: 101 - 108 (1987).

38. Iglesias, S.G.: Los antígenos más importantes del virus de la enfermedad de Aujeszky. Memorias del XXVIII Congreso Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Cerdos AMVEC 93 Cancún Q. Roo. México 103 - 108. AMVEC Cancún Quintana Roo. (1993).

39. Iglesias, S.G.: Estrategias para el control de la infección con el virus de la enfermedad de Aujeszky. Memorias del XXIX Congreso Nacional AMVEC Puerto Vallarta, Jalisco 1994. AMVEC Puerto Vallarta, Jalisco (1994).

40. Intervet International B.V. Nobivac AUJESZKY, Boletín Técnico. México, (1992).

41. Kimman, T.G.: Control and eradication of Aujeszky's disease. Memorias del Symposium sobre enfermedades del cerdo con implicaciones en el comercio internacional. Editado por Morilla, A. y López A. (1 - 6) México, D.F. (1992).

42. Kimman, T.G., Branchi, A.T.J. and Van, Z.D.: The immune system and the response to pseudorabies virus infection. First International Symposium on the eradication of Pseudorabies (Aujeszky's) virus. University of Minnesota College of Veterinary Medicine, St. Paul, Minnesota United States (1991).

43. Kimman, T.G.: Immunological protection against pseudorabies virus. Aujeszky's Disease Symposium O.I.E. Intervet, 11 - 22. Bangkok, Thailand (1994).

44. Kluge, J.P., Beran, G.W., Hill, H.T. and Platt, K.B.: Pseudorabies (Aujeszky's Disease). In diseases of swine. 7th. ed. Edited by Leman, A.D. Iowa State University Press Ames Iowa USA 1992.

45. Los municipios de Jalisco. Secretaría de Gobernación Vol. 14, (1988).

46. Martell, D.M.A.: Consideraciones sobre la enfermedad de Aujeszky o Pseudorrabia en México. En avances en enfermedades del cerdo, 1985. Editado por Morilla, A., Correa, P. y Stephano A. México, (1985).

47. Maqueda, A.J.: Características clínicas de la enfermedad de Aujeszky. En avances en enfermedades del cerdo, 1985. Editado por Morilla, A., Correa, P. y Stephano A. México, (1985).

48. Maya, R.J.M.: Despoblación / repoblación en granjas porcinas. Estudio recapitulativo. Tesis de licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM (1993).

49. McMillen, J.: A new generation in pseudorabies vaccination and control. First International Symposium on the eradication of Pseudorabies

(Aujeszky's) virus. University of Minnesota College of Veterinary Medicine. St Paul, Minnesota United States (1991).

50. Mettenleiter, T.C., Lukacs, N. and Rziha, H.J.: Pseudorabies virus avirulent strains fail to express a major glycoprotein. Journal of Virology, 1: 307 - 311 (1985).

51. Mettenleiter, T.C.: Molecular biology of Pseudorabies (Aujeszky's disease) virus. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis. 14 (2): 151 - 163 (1991).

52. Mettenleiter, T.C.: Pseudorabies (Aujeszky's Disease) virus: A brief introduction. Aujeszky's Disease Symposium O.I.E. Intervet. 1 - 9. Bangkok, Thailand (1994).

53. Mireles, V.: Vacunas y vacunación. En avances en enfermedades del cerdo, 1985. Editado por Morilla, A., Correa, P. y Stephano A. México, (1985).

54. Morilla, G.A.: Un punto de vista sobre la importancia de la inmunización en la clínica porcina. En avances en enfermedades del cerdo, 1985. Editado por Morilla, A., Correa, P. y Stephano A. México, (1985).

55. Morilla, G.A.: Aspectos inmunológicos de la enfermedad de Aujeszky. En avances en enfermedades del cerdo, 1985. Editado por Morilla, A., Correa, P. y Stephano A. México, (1985).

56. Morilla, G.A.: Manual de inmunización del cerdo. Editado por INIFAP-SARH y PAIPEME. México (1993).

57. Morrison, R.B.: Elimination of Aujeszky's disease virus from swine herds. Aujeszky's Disease Symposium O.I.E. Intervet. 45 - 53. Bangkok, Thailand (1994).

58. Ohlingerr, V.F., Vogt, A. and Saalmuller, A.: PRV - Infection - vaccination o eradication ?. First International Symposium on the eradication of

Pseudorabies (Aujeszky's) virus. University of Minnesota College of Veterinary Medicine. St. Paul, Minnesota United States (1991).

59. Oren, S.L., Swenson, S.L., Kinker, D.R. and Meetz, M.C.: Sensivity and specificity comparison of serological Pseudorabies tests. First International Symposium on the eradication of Pseudorabies (Aujeszky's) virus. University of Minnesota College of Veterinary Medicine. St. Paul, Minnesota United States (1991).

60. Osorio, F.A.: Diagnosis of Pseudorabies (Aujeszky's disease) virus infections. First International Symposium on the eradication of Pseudorabies (Aujeszky's) virus. University of Minnesota College of Veterinary Medicine. St. Paul, Minnesota United States (1991).

61. Osorio, F.A.: Planes de investigación que prestan apoyo a la campaña de erradicación de la enfermedad de Aujeszky en los Estados Unidos. Memorias del Symposium sobre enfermedades del cerdo con implicaciones en el comercio internacional. Editado por Morilla, A. y López A. (1 - 6) México, D.F. (1992).

62. Osorio, F.A.: Diagnosis of Aujeszky's disease. Aujeszky's Disease Symposium O.I.E. Intervet, 33 - 43. Bangkok, Thailand (1994).

63. Pensaert, M., Nauwynck, H. and De Smel, K.: Pathogenesis of Pseudorabies virus (PRV) infection in swine with reference to control and eradication. First International Symposium on the eradication of Pseudorabies (Aujeszky's) virus. University of Minnesota College of Veterinary Medicine. St. Paul, Minnesota United States (1991).

64. Quint, W., Gielkens, A., VanOirschot, J. Berns, A. and Cuypers, H.T.: Construction and Characterization of deletion mutants of Pseudorabies virus: a New Generation of 'Live' Vaccines. J. gen. Virol., 68: 523 - 534 (1987).

65. Ramirez, M.H., Valero, E.G. y Fraire, C.M.: Diagnóstico serológico de enfermedades virales. En diagnóstico veterinario. 1a. ed. Editado por Valero, E.G. México (1993).

66. Ramirez, M.H., Carreón, N.R., Mercado, G.C., Rodríguez, T.J. y Trujillo, O.M.E.: Correlación entre las pruebas de seroneutralización, ELISA g1 (-) y aglutinación en latex en la detección de anticuerpos contra la enfermedad de Aujeszky. Memorias de la Reunión Anual de Investigación Pecuaria. (1995).

67. Roger, K.: Pseudorabies (Aujeszky's disease) virus latency. First International Symposium on the eradication of Pseudorabies (Aujeszky's) virus. University of Minnesota College of Veterinary Medicine. St. Paul, Minnesota United States (1991).

68. Rosales, O.C.: Aspectos epizootiológicos de la enfermedad de Aujeszky. En avances en enfermedades del cerdo, 1985. Editado por Morilla, A., Correa, P. y Stephano A. México, (1985).

69. Rosales, O.C.: Circulación de patógenos en la granja. En avances en enfermedades del cerdo, 1985. Editado por Morilla, A., Correa, P. y Stephano A. México, (1985).

70. Rosales, O.C.: Panorama de la enfermedad de Aujeszky en México. Memorias del Symposium sobre enfermedades del cerdo con implicaciones en el comercio internacional. Editado por Morilla, A. y López A. (7 - 17) México, D.F. (1992).

71. Schmitt, B.J., Osorio, F.A., Stroup, W.W. and Gibbs, E.P.J.: A comparison of defferential diagnostics tests to detect antibodies to Pseudorabies glycoproteins gX, gI and g III in naturally infected feral pigs. J. Vet. Diagn. Invest. 3: 344 - 345 (1991).

72. Schoenbaum, M.A., Beran, G.W. and Murphy, D.P.: A study comparing the inmulogic responses of swine to Pseudorabies viral antigens based on the

ELISA, serum virus neutralization and latex agglutination tests. J. Vet. Diagn. Invest. 2: 29 -34 (1990).

73. Schoenbaum, M.A., Zimmerman, J.J., Beran, G.W. and Murphy, D.P.: Survival of pseudorabies virus in aerosol. Am. J. Vet. Res. 51 (3): 331 - 333 (1990).

74. Schoenbaum, M.A., Beran, G.W. and Murphy, D.P.: Pseudorabies virus latency and reactivation in vaccinated swine. Am. J. Vet. Res. 51(3): 334 - 338 (1990).

75. Sierra, R.N., Ramírez, N.R. y Correa, G.P.: Valoración preliminar para detectar cerdos positivos y negativos a la glicoproteína I del virus de la enfermedad de Aujeszky mediante la técnica de ELISA. Memorias del XXVIII Congreso Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Cerdos AMVEC 93 Cancún Q. Roo. México 103 -108. AMVEC Cancún Quintana Roo. (1993).

76. Sonka, S.: PRV: Just one more challenge. Pork 95, 6: 64 (1995).

77. Taylor, D.J.: Pig Diseases. Sixth edition. St. Edmundsbury Press, Great Britain, (1995).

78. Thawley, D.G., Gustafson, D.P. and Beran, G.W.: Procedures for the elimination of pseudorabies virus from herds of swine. JAVMA, 12: 1513 - 1518 (1982).

79. Thawley, D.G. and Morrison, R.B.: Programs for the elimination of Pseudorabies virus from large herds of swine. JAVMA, 193(2): 184 - 190 (1988)

80. Tonelli, Q.J.: Development and validation of herdchek Pseudorabies virus gX and gI antibody test kits for use with gene - deleted Pseudorabies vaccine. First International Symposium on the eradication of Pseudorabies (Aujeszky's) virus. University of Minnesota College of Veterinary Medicine, St. Paul, Minnesota United States (1991).

81. Thrusfield, M.: Epidemiología Veterinaria. Ed. Acribia, México, (1989).
82. Vandeputte, J., Chappuis, G., Fargeaud, D., Précausta, P., Guillemin, F., Brun, A., Stellmann, C.: Vaccination against pseudorabies with glycoprotein g1+ or glycoprotein g1 - vaccine. Am. J. Vet. Res. 51: 1100 - 1106 (1990).
83. Vannier, P.: The role of PRV vaccines in eliminating PRV. First International Symposium on the eradication of Pseudorabies (Aujeszky's) virus. University of Minnesota College of Veterinary Medicine, St. Paul, Minnesota United States (1991).
84. Vannier, P., Hutet, E., Bourgueil, E. and Carrolet, R.: Level of virulent virus excreted by infected pigs previously vaccinated with different glycoprotein deleted Aujeszky's disease vaccines. Veterinary Microbiology, 29: 213 - 223 (1991).
85. Vannier, P., Eliot, M.E., Govello, L., LeBail, P. and Toma, B.: Epidemiological studies of the persistence of Aujeszky's disease virus between and within herds in France. Preventive Veterinary Medicine. 11: 115 - 123 (1991).
86. Vannier, P.: Testing of Aujeszky's disease vaccines (safety, efficacy, reduction of virus shedding). Aujeszky's Disease Symposium O.I.E. Intervet. 23 - 31. Bangkok, Thailand (1994).
87. VanOirschot, J.T.: Induction of antibodies to glycoprotein I in pigs exposed to different doses of mildly virulent strain of Aujeszky's disease virus. Vet. Rec., 122: 599 - 603 (1988).
88. VanOirschot, J.T., Gielkens, A.L.J., Moormann, R.J.M. y Berns, A.J.M.: Marker vaccines virus protein - Specific antibody assays and the control of Aujeszky's disease. Veterinary Microbiology, 23: 85 -101 (1990).

89. VanOirschot, J.T.: Pseudorabies virus, its host and their environment with reference to eradication. First International Symposium on the eradication of Pseudorabies (Aujeszky's) virus. University of Minnesota College of Veterinary Medicine. St. Paul, Minnesota United States (1991).

90. VanOirschot, J.T.: Why Pseudorabies virus is a candidate for eradication?. First International Symposium on the eradication of Pseudorabies (Aujeszky's) virus. University of Minnesota College of Veterinary Medicine. St. Paul, Minnesota United States (1991).

91. Wittmann, G. and Rziha, J.H.: Aujeszky's disease (Pseudorabies) in pigs. In Herpesvirus diseases of cattle, horses and pigs. Edited by G. Wittmann. Ed. Kluwer Academic Publishers. London, (1989).

92. Zuckermann, F.A.: evaluation of the antiviral cellular immune response of swine using vaccinia recombinants expressing cloned genes for pseudorabies virus glycoproteins. First International Symposium on the eradication of Pseudorabies (Aujeszky's) virus. University of Minnesota College of Veterinary Medicine. St. Paul, Minnesota United States (1991).

X CUADROS Y FIGURAS

Cuadro 1. FUNCION DE LAS GLICOPROTEINAS EN LA VIRULENCIA DEL VIRUS DE LA ENFERMEDAD DE AUJESZKY (VEA)

GLICOPROTEINA	gI (gE)	gp63 (gI)	gp50 (gD)	gIII (gC)	gII (gB)	gX (gG)	gH	gL	TK
Esencial	-	-	+	-	+	-	+	-	-
Ligamento	+	+	+	+	+	-	+	+	
Penetración	-	-	+	+	-	-	-	-	
Diseminación célula-célula	-	-	+	-	+	-	+	+	
Localización	Us	Us	Us	UL	UL	Us	UL	UL	
Neutralización sin complemento	-	-	+	+	+	-	?	?	?
Neutralización con complemento	+	?	+	+	+	-	?	?	?
Producción de inmunidad	-	-	+	+	+	-	-	-	-
Expresión de la virulencia	+	+	-	-	+	-	-	-	+
Tropismo y difusión hacia SNC	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Liberación del VEA a partir de cel. infectadas.	+	-	-	+	-	-	-	-	-

Cuadro 2. VIRULENCIA DE ALGUNAS CEPAS MODIFICADAS DEL VIRUS DE LA ENFERMEDAD DE AUJESZKY (VEA)

Cepa vacunal	Virulencia para:					Multiplicación viral:			Excreción viral	Infección por contac.
	Lechones lactantes	Cerdos adultos	Bovinos	Ovinos	Perros	Local	General	Feto		
Bartha K-61	-	-	-	-	+	+	-		-/+	-
NIA-4	-	-	-	-		+	+		-/+	-
BUK 387/O	+	-				+	+		+	-
/250	+	-	+	+	?	+			+	-
/437	-	-	+	+		+			+	-
/628	(+)	-				+	+	+		-
/1000		-	+	+		+		+		-
BUK-TK/200	-	-	+	+		+	+	-	+	+
/300		-	-	+		+				-
/400		-	+	+		+			-	-
/650	-	-	+	+		+	+	-	-	-
/840		-	-			+				-
/900		-	+			+		-		-
Ercegovac	+	-	+	+	+	+			+	+
B-Kal 68		-	+	+	+	+			+	-
MK - 25		-	-	-	+	+	+		+	-
MK - 35		-	-	-		+	+			-
A - 26	-	-			+	+	-			-
Dessau		-				+				-

Wittmann, G. and Rziha, J. 1989 (94)

Cuadro 3. TECNICAS DE DIAGNOSTICO PARA EL VIRUS DE LA ENFERMEDAD DE AUJESZKY (VEA)

PRUEBAS QUE DETECTAN INMUNIDAD CELULAR	CELULA INVOLUCRADA	PRUEBAS QUE DETECTAN INMUNIDAD HUMORAL	PRUEBAS QUE DETECTAN AL ANTIGENO
Estimulación de linfocitos	Linfocitos T	Hemoaglutinación pasiva	Inmunofluorescencia Directa (IFD)
Inhibición de la migración de los leucocitos	Macrófagos y Neutrófilos	Inmunodifusión en Agar (IDA)	Inmunofluorescencia Directa en Cultivo de Tejidos (IFDCC).
Citotoxicidad dependiente de anticuerpos	Macrófagos, Neutrófilos y linfocitos	Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)	Inmunoperoxidasa Directa (ID)
Citotoxicidad de células T	Células T	Contrainmunolectroforesis	Pruebas Biológicas
		Immunodifusión Radial Enzimática en Agar (RIDEA)	
		Aglutinación en Látex (AL)	
		Fijación de Complemento (FC)	
		Prueba Inmunoenzimática (ELISA) (ELISA gI (-))	
		Seroneutralización (SN)	

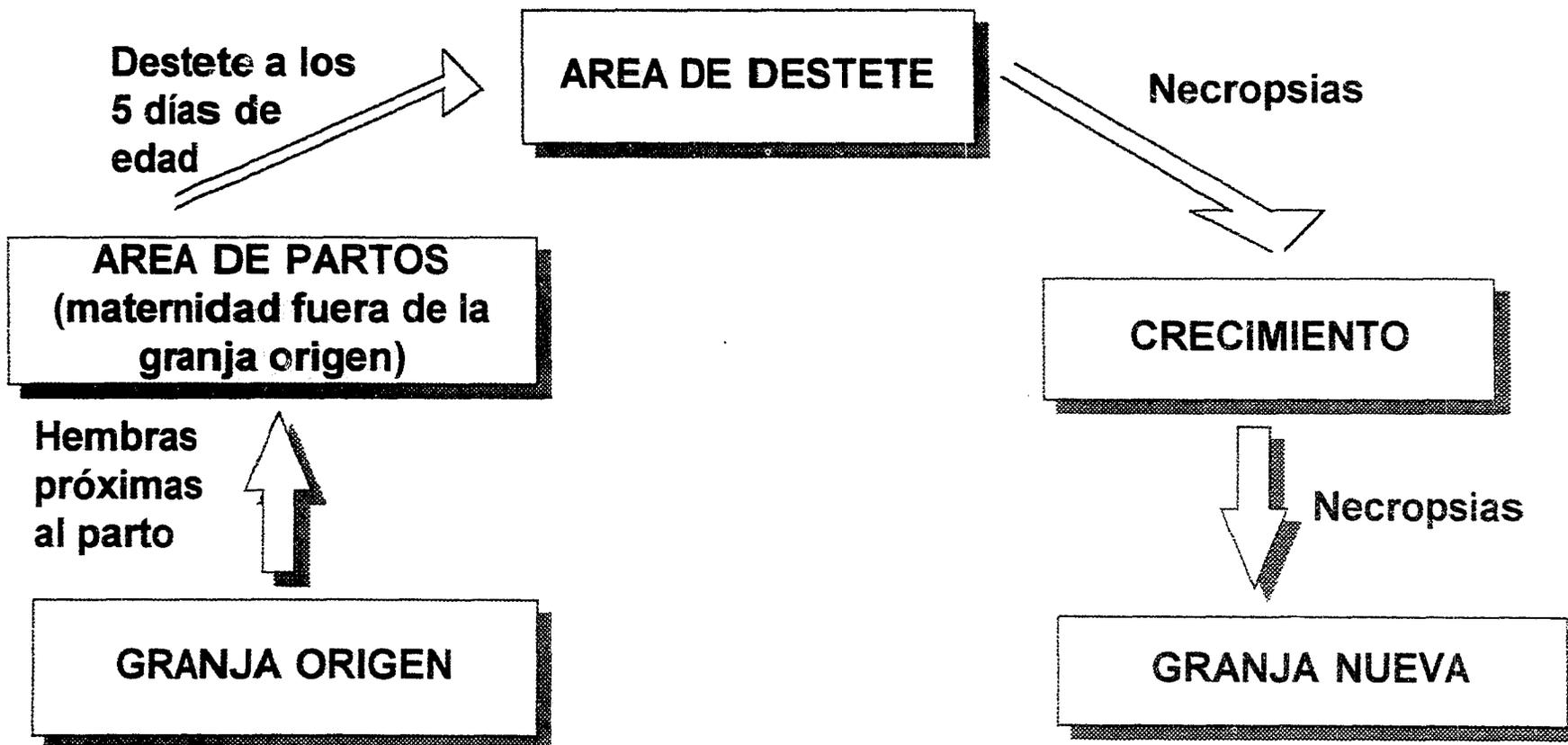
Fuentes, M. 1989 (30)

Cuadro 4. Principales técnicas serológicas para el diagnóstico del virus de la enfermedad de Aujeszky

	Sensibilidad	Especificidad	Rapidez	Detección de infección temprana	Se trabaja con múltiples muestras
Seroneutralización (SN)	X	X			
ELISA	X		X	X	X
ELISA g1 (+)	X	X	X	X	X
Aglutinación en latex (AL)	X		X	X	

Cuadro 5. Destete medicado temprano (MEW)

87



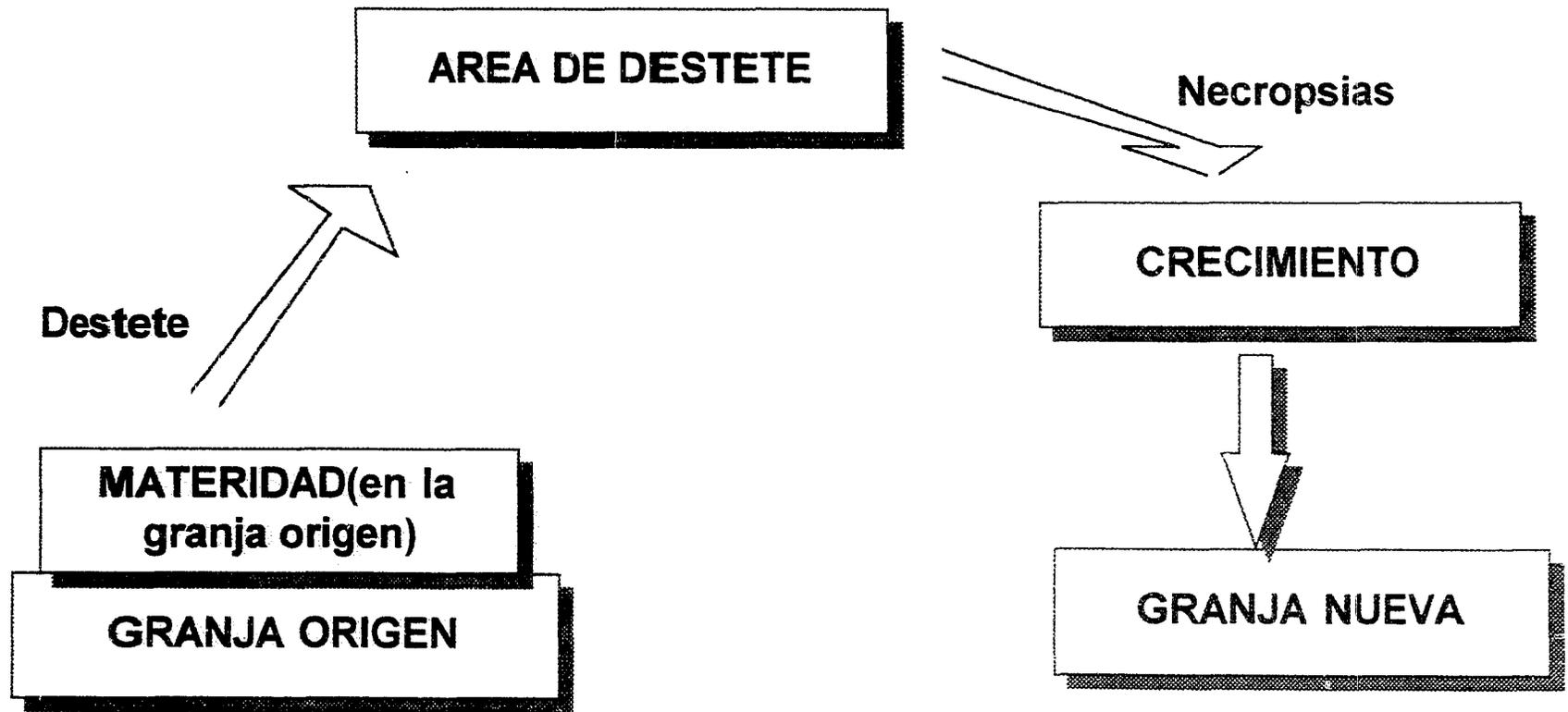
Harris, H. 1994 (35)

**Cuadro 6. Edad de destete recomendada para la
eliminación de diferentes microorganismos
infecciosos en cerdos**

Agente infeccioso	Edad en días
<i>Pasteurella multocida</i>	10
<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	10
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	21
Virus de la enfermedad de Aujeszky	21
Virus de GET	21
<i>Serpulina hyodysenteriae</i>	21
PRRS	21

Harris, H. 1994 (35)

Cuadro 7. Destete medicado temprano modificado (MMEW)



89

Harris, H. 1994 (35)

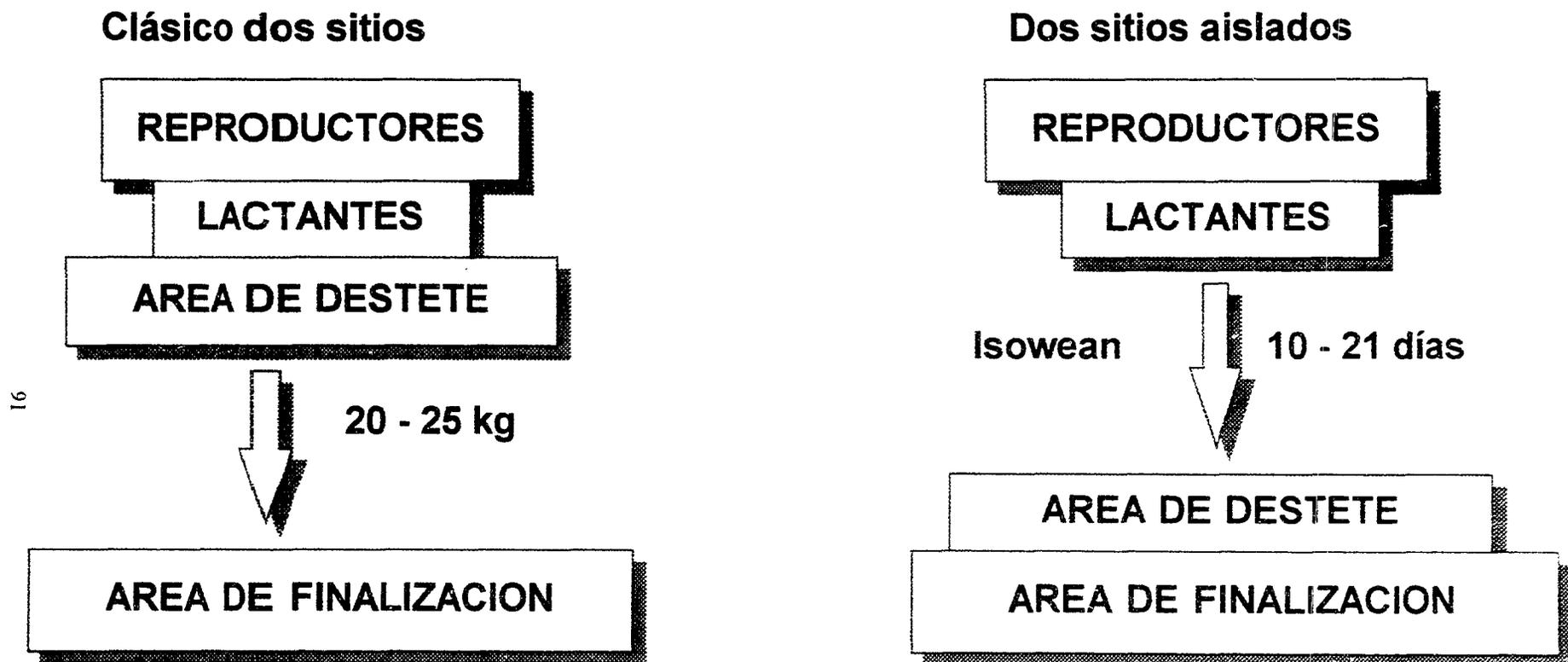
Cuadro 8. Un sitio de producción clásico



06

Harris, H. 1995 (14)

Cuadro 9. Dos sitios de producción aislados (Isowean^R)

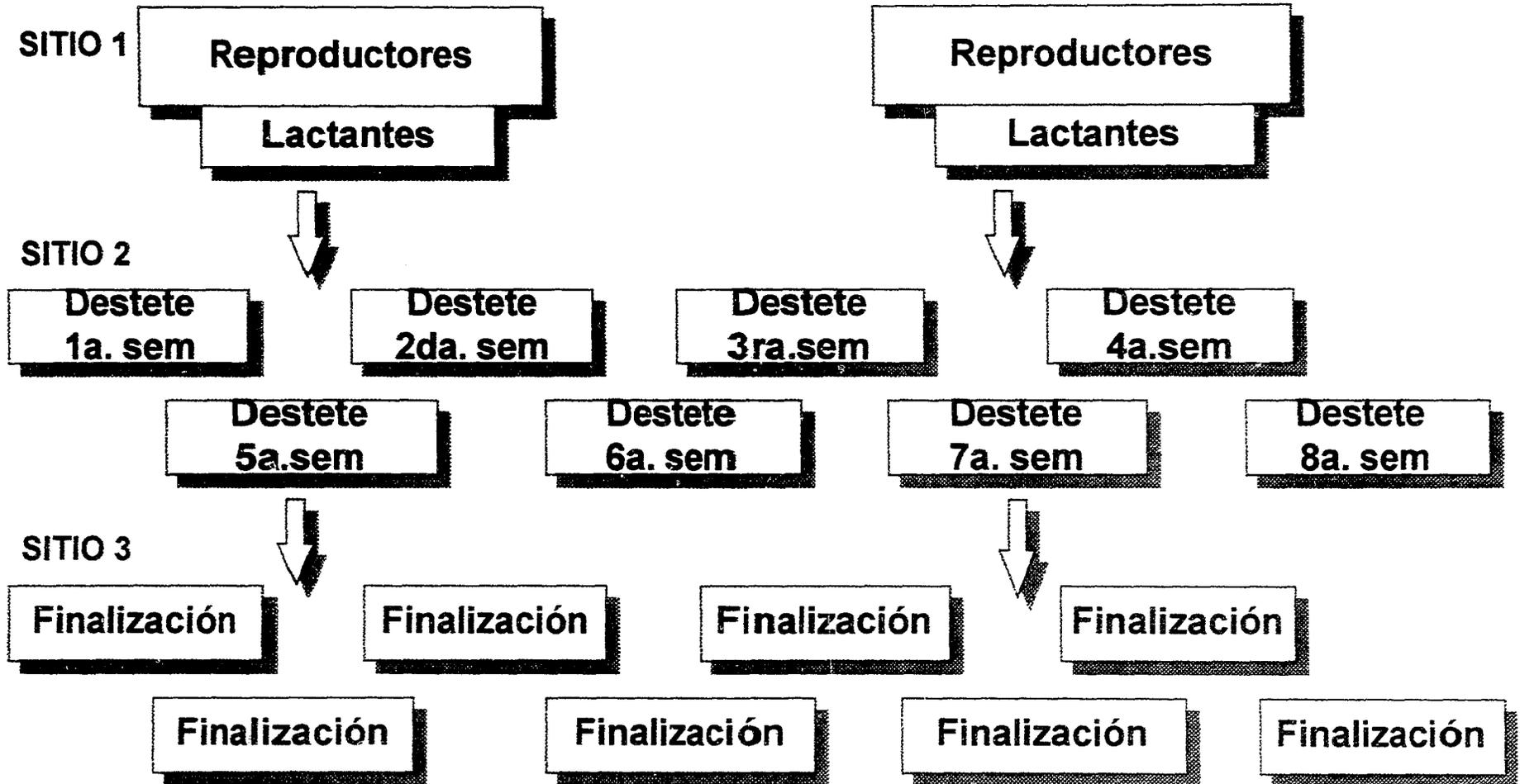


Harris, H. 1995 (14)

Cuadro 10. Tres sitios de producción aislados (Isowean^R)



Cuadro 11. Sitios múltiples de producción aislados (Isowean^R)



93

Cuadro 12. Efecto del uso de tres sitios de producción en la productividad de la hembra

	Antes	Después
No. hembras	140	250
Lechones nac. vivos	9.5 - 10.0	9.4 - 10.1
Pres. estro postdestete	5.7	6.3
Cerdos dest/hem./año	18 - 20	22 - 23
Camadas/hem./año	2.2	2.5
Cerdos vendidos/año	2660	5750
Días al mercado	180	150 - 160

Antes del uso de tres sitios de producción

Después de iniciar el uso de tres sitios de producción

Dee, S. 1993 (23)

Cuadro 13. Peso promedio (kg) de lechones de las mismas camadas destetados a 21 días de edad por Isowean

Edad	35 días	49 días	63 días
	(I) 10.21	(I) 17.25	(I) 25.07
	(DS) 1.97	(DS) 3.31	(DS) 3.20
	(C) 7.51	(C) 11.0	(C) 16.22
	(DS) 1.38	(DS) 2.92	(DS) 3.01

(I) Isowean
(C) Controles
(DS) Desviación estandar

Cuadro 14. Seropositividad al momento del brote de la Enfermedad de Aujeszky mediante la técnica de Seroneutralización en los tres sitios

SITIO / FECHA MUESTREO	+ / Total	%
Sitio 1 / Agosto 93	10 / 10	100
Sitio 2 / Agosto 93	10 / 10	100
Sitio 3 / Agosto 93	26 / 29	89.65
PREVALENCIA TOTAL	46 / 49	93.87

Cuadro 15. Seropositividad por sitio después del brote de la Enfermedad de Aujeszky

SITIO	+ / Total		%	
	E	SN	E	SN
1	0 / 44	44 / 44	0	100
2	1 / 119	0 / 119	0.84	0
3	0 / 1047	0 / 179	0	0

E = ELISA competitiva gl +
 SN = Seroneutralización

Cuadro 16. Seropositividad por muestreo de los animales del pie de cría, mediante la técnica de Seroneutralización (SN) antes y después del brote ocurrido en el sitio 1

FECHA MUESTREOS	+ / Total	%
1) Nov.92	0 / 10	0
2) Mar. 93	0 / 10	0
3) May. 93	0 / 10	0
TOTAL	30 / 30	0
4) Jun.93	BROTE. Lechones con signos nerviosos y encefalitis no supurativa difusa; Hembras con repeticiones, fiebre y abortos; Animales de final. con prob. respiratorios.	
6) Ago. 93	10 / 10	100
7) Nov. 93	10 / 10	100
8) Mar. 94	10 / 10	100
9) May. 94	14 / 14	100
TOTAL	44 /44	100

Cuadro 17. Seropositividad por muestreo de animales centinelas y de línea mediante la técnica de Seroneutralización (SN) y ELISA g1+ en el sitio 2

FECHA MUESTREOS	Seroneutralización		ELISA competitiva g1 +	
	+ / Total	%	+ / Total	%
1) Oct. / 8 / 93	0 / 8*	0	0 / 8*	0
2) Oct./20/93(C)	0 / 10*	0	0 / 10*	0
Oct./20/93(L)	6 / 6 **	100	6 / 6**	100
3) Nov. 93	0 / 32*	0	0 / 32*	0
4) Dic. 93	0 / 59*	0	0 / 59*	0
5) Dic. 93	0 / 10*	0	1 / 10*	10
TOTAL	6 / 119	0	1 / 119	0.84

**** Animales de línea muestreados que presentan anticuerpos del virus de campo pero de origen materno. Estos no se tomaron en cuenta para expresar los porcentajes de seropositividad.**

*** Animales centinelas y de línea.**

C = Centinelas L = Línea

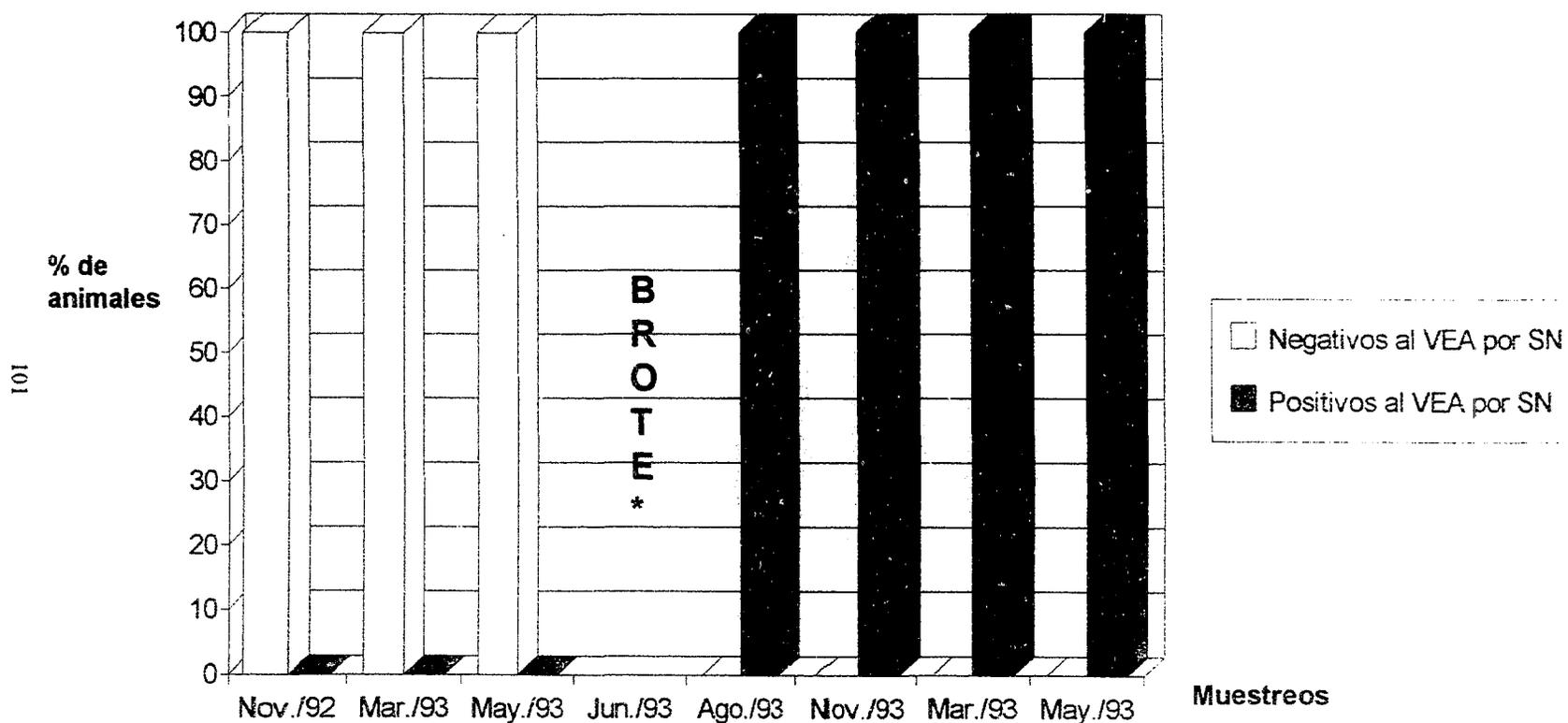
Cuadro 18. Seropositividad por muestreo de animales centinelas y de línea mediante la técnica de Seroneutralización (SN) en el sitio 3.

FECHA MUESTREOS	N	%
1) Ene. 94	0 / 69 *	0
2) Feb. 94	0 / 70 *	0
3) Mar. 94	0 / 530 **	0
4) May. 94	0 / 20 *	0
5) Jun. 94	0 / 20 *	0
6) Sep.94	0 / 517 **	0
TOTAL	0 / 1226	0

* Animales centinelas.

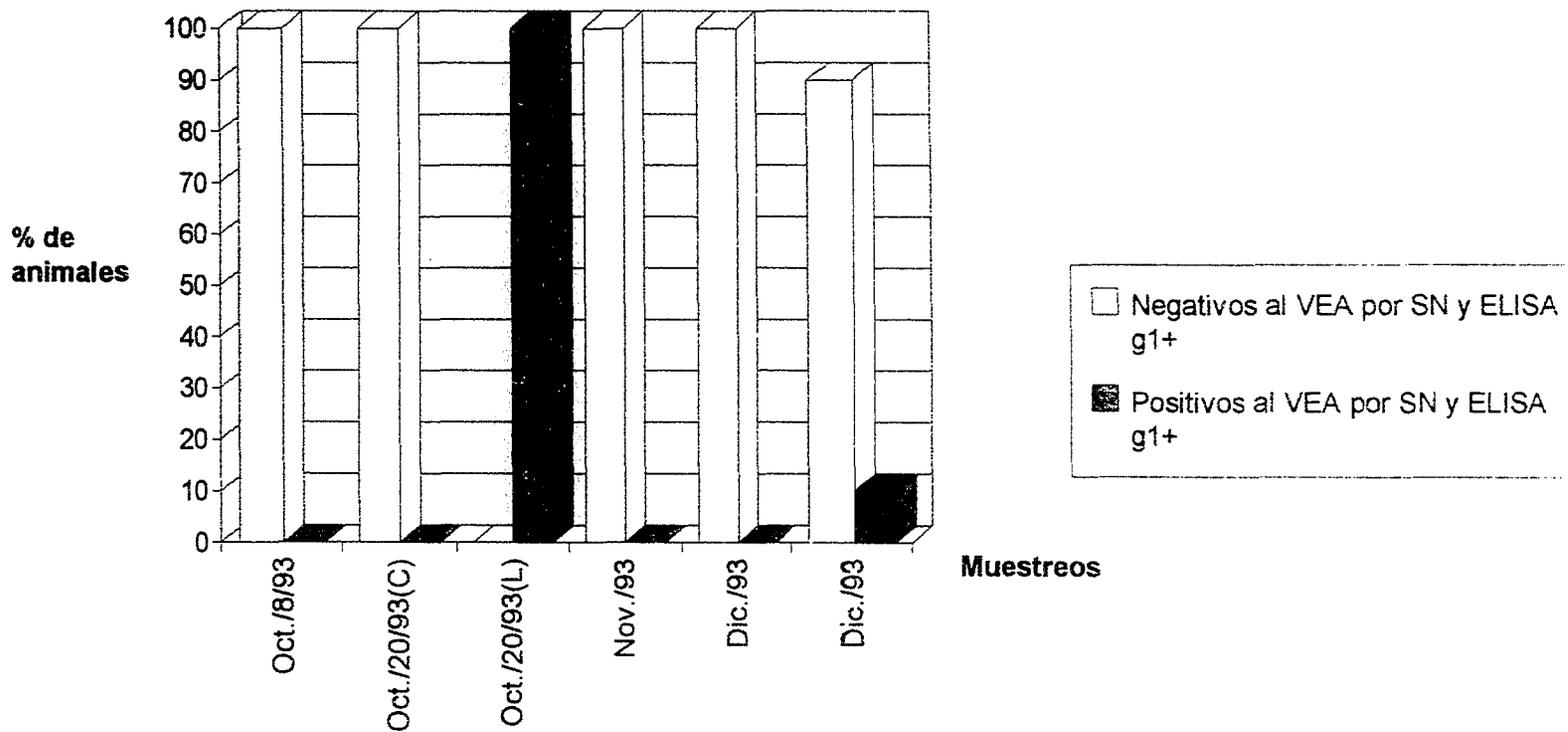
** Animales de línea.

Figura 1. Muestras realizadas y porcentaje de animales con anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Aujeszky (VEA) en el sitio 1



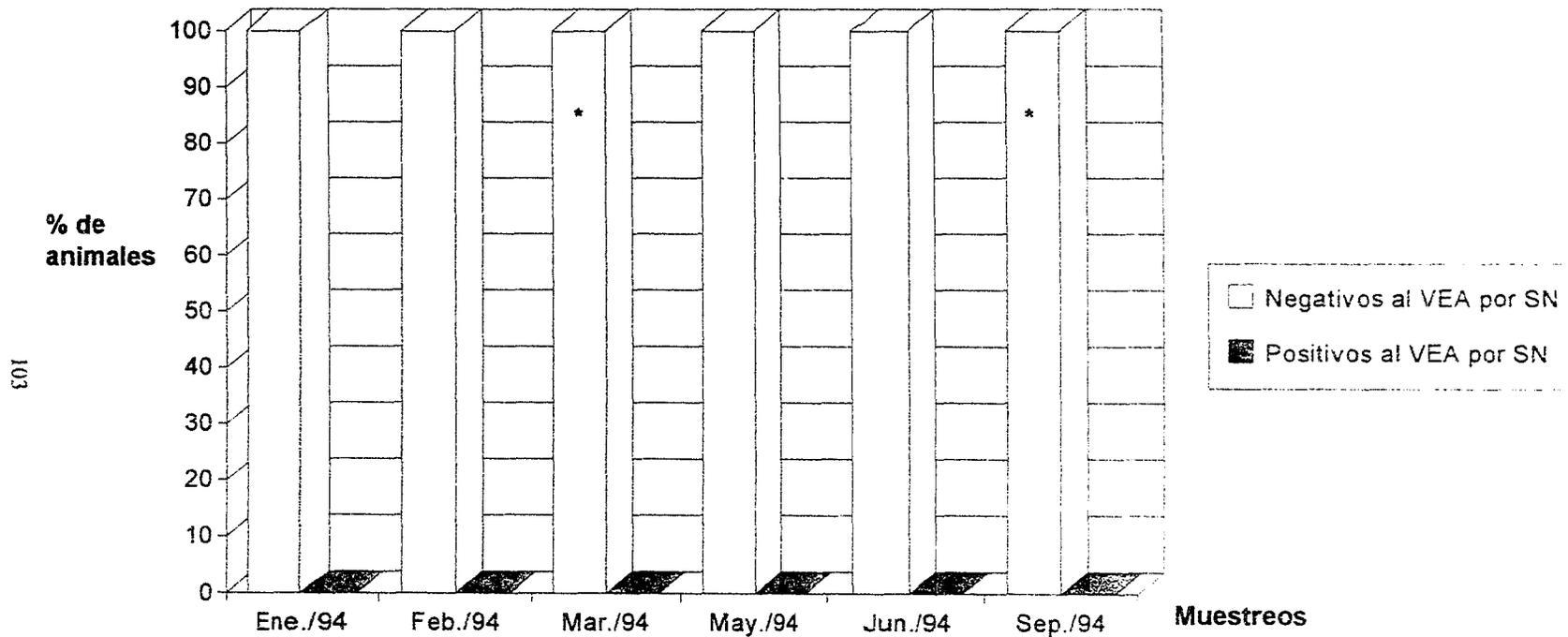
* Lechones con signos nerviosos y lesiones de encefalitis no supurativa difusa.; hembras con repeticiones, fiebre y abortos; animales en finalización con problemas respiratorios.
 SN = Seroneutralización

Figura 2. Muestras realizadas y porcentaje de animales con anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Aujeszky (VEA) en el sitio 2



*Animales de línea con anticuerpos de procedencia materna
 (C) Animales centinelas (L) Animales de línea
 SN = Seroneutralización ELISA competitiva g1+

Figura 3. Muestreos realizados y porcentaje de animales con anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Aujeszky (VEA) en el sitio 3



SN = Seroneutralización

*** Resultados obtenidos por la técnica de ELISA competitiva g1+ y emitidos por la Secretaria de Agricultura, Ganaderia y Desarrollo rural (SAGAR).**