

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS DE INFLUENZA PORCINO SEROTIPO H₃N₂ EN CERDOS DE DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUCCIÓN EN MÉXICO

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

JOSÉ LUIS JIMÉNEZ NÁPOLES

Asesores:

MVZ., MC. CARMEN MERCADO GARCÍA
MVZ., MC., CERT. ROSALBA CARREÓN NÁPOLES
MVZ., MPA., CERT. MARCO ANTONIO HERRADORA LOZANO



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.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por haberme permitido alcanzar una meta más en la vida

A mi padre quien siempre ha sido mi amigo y con sabiduría me enseñó a alcanzar mis objetivos y a realizar las cosas que mas me gustan con alegría y dedicación

A mi madre que con su disciplina hizo de mi un buen estudiante y deportista.

A mi hermano quien ha sido mi cómplice, mi amigo y hoy mi alumno.

A mi hermana, quien nunca dejo de apoyarme y ayudarme en los momentos más difíciles.

A mis amigos de toda la carrera: Mario I, Emma, Denny, Roberto, Mario, Nacho, Vianca y Claudia, quines juntos, logramos hacer cosas interesantes como compañeros de clases.

A mis asesores los MVZ: Rosalba, Carmen y Marco por la paciencia que tuvieron para realizar este trabajo.

A todos los integrantes del Departamento de Producción Porcina, quienes gracias a la experiencia de estar con ellos, me permitieron aprender cada día algo nuevo dentro de esta profesión.

DEDICATORIAS

Quiero dedicar este trabajo a mi familia y amigos, que gracias a su amor y apoyo se ha concretado esta etapa como profesionista.

De forma especial, quiero dedicar este trabajo a los MVZ: Ramón Ortega, Rubén Alfaro y su esposa Margarita, ya que ellos fueron mis primeros maestros e inspiradores dentro de esta carrera.

De igual forma a toda esa gente que de forma indirecta me apoyaron como mis entrenadores: Javier, Federico y Carlos, quienes enseñan a no rendirse jamás y a buscar una armonía consigo mismo.

Y por ultimo a todos los compañeros que decidieron dedicar su vida al cuidado de la salud de los animales de compañía y de producción.

“Un artemarcialista es un eterno estudiante y su deber es enseñar sin egoísmos lo que va aprendiendo a medida de su desarrollo”

Sensei: Javier Alvarado

CONTENIDO

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	3
MATERIAL Y MÉTODOS.....	33
RESULTADOS.....	36
DISCUSIÓN.....	39
REFERENCIAS.....	45

RESUMEN

JIMÉNEZ NÁPOLES JOSÉ LUIS. Determinación de anticuerpos contra el virus de Influenza Porcina serotipo H₃N₂ en cerdos de diferentes sistemas de producción en México. (Bajo la supervisión de: MVZ., MC. Ma. Del Carmen Mercado García, MVZ., MC. Cert. Rosalba Carreón Nápoles, MVZ., MPA., Cert. Marco Antonio Herradora Lozano)

La presencia de anticuerpos contra Virus de Influenza Porcina (VIP) subtipos H₃N₂, en sueros porcinos provenientes de tres sistemas de producción en México (sitios múltiples, ciclo completo en un sitio de producción y traspatio), ha sido evidenciada. Seiscientos sueros (trescientos de animales del pie de cría y trescientos de cerdos de engorda) provenientes de diferentes puntos de la República Mexicana, fueron analizados mediante la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (IH). Del total de los sueros el 44% de las muestras resultaron positivas. El pie de cría de los cerdos de sitios múltiples (58%) y la engorda de los animales de traspatio (55%) presentaron la mayor prevalencia de anticuerpos contra el subtipo H₃N₂ del VIP en comparación con el resto de los animales. No existió diferencia estadísticamente significativa entre los tres tipos de sistemas de producción, ni tampoco entre las dos etapas analizadas. En la IH el título que con mayor frecuencia se presentó fue negativo: 1:40, mientras que los títulos positivos más altos fueron: 1:80 y 1:160, que correspondieron al pie de cría de los animales de sitios múltiples y a la engorda de los animales de traspatio respectivamente. Los resultados obtenidos indican que la presencia de anticuerpos contra el VIP no depende del sistema de producción ni de la etapa productiva, a pesar de que existe una mayor prevalencia de animales positivos de pie de cría del sistema de sitios múltiples.

Abstract

JIMÉNEZ NÁPOLES JOSÉ LUIS. Antibody determination against porcine influenza virus serotype H₃N₂ in pigs from different pig production systems in Mexico. (Under the supervision of: MVZ., MC. Ma. Del Carmen Mercado García, MVZ., MC. Cert. Rosalba Carreón Nápoles, MVZ., MPA., Cert. Marco Antonio Herradora Lozano)

The presence of antibodies against Swine Influenza Virus (SIV) subtypes H₃N₂, in serums from three production systems in Mexico (multiple site, complete production cycle and backyard production) has been shown. Six hundred serums (three hundred breeding herd and three hundred fattening pigs) were obtained at different locations in Mexico. The samples were evaluated with the hemagglutination inhibition test (HI), from the total samples 44% were positive. 58% from breeding herd of the samples were positive and belongs to the herd of multiple site and 55% of finishing pigs from the back yards units. These results showed the highest prevalence of antibodies against SIV in comparison with the rest of the animals. There was not showed significant statistical difference ($P>0.05$) between the three kinds production systems or between the two stages analyzed; the most frequently negative title observed in serum was 1:40, whereas the highest positive titles obtained were 1:80 and 1:60, which correspond to breeding herd pigs in multiple sites and backyard fattening stock, respectively. In this study the results obtained showed that the presence of antibodies against SIV does not depend on the production system or the production stage, although there was a higher incidence among breeding herd animals in the multiple site system.

INTRODUCCIÓN

HISTORIA

El virus de la influenza puede infectar a varias especies como: equinos, carnívoros, e incluso, llevando a cabo un proceso de adaptación a humanos, se cree que los huéspedes principales son las aves silvestres.^{1,2}

Se pensaba generalmente que los virus de los humanos únicamente infectaban a los humanos y los virus de los cerdos únicamente a los cerdos, pero hay numerosos casos en que el virus de la influenza humana infecta a los cerdos y viceversa y los virus de los cerdos a aves de corral como los pavos.³

El Virus de la Influenza Porcina (VIP) se aisló y fue identificado en 1930. Durante los siguientes 25 años se realizaron estudios de inmunidad, transmisión, de adaptación del virus a huéspedes de laboratorio, de las relaciones antigénicas con otros virus de la influenza y del mantenimiento de la enfermedad en la naturaleza, este continúa infectando a las poblaciones porcinas alrededor del mundo.^{4, 5, 6}

El VIP subtipo H₃N₂, apareció en los Estados Unidos en 1998 causando severos problemas respiratorios principalmente en cerdos en la etapa de finalización y en hembras gestantes.⁴ El subtipo H₃N₂ fue aislado por primera vez en un lechón en 1997 en Ontario, Canadá.²

Antes de 1998 se había informado que esta enfermedad únicamente era causada por el VIP clásica subtipo H₁N₁.⁴

El VIP es uno de los patógenos más comunes del tracto respiratorio en cerdos. Los signos clínicos que se presentan son: fiebre alta, descargas nasales serosas, tos, disnea y pérdida de peso. El virus rara vez es causa de muerte de

los cerdos, pero se complica cuando interactúa con otros agentes bacterianos o de origen viral causando grandes pérdidas económicas.^{1,7, 8}

La Influenza Porcina (IP) ha recibido considerable atención desde que se describió por primera vez en 1918. A fines del verano de ese año apareció en los cerdos del centro-norte de los Estados Unidos una enfermedad epizootica, que tenía muchas similitudes clínicas y anatomopatológicas con la influenza del hombre. La aparición de la enfermedad en los cerdos coincidió con la pandemia de influenza de 1918, que se estima fue la responsable de la muerte de más de 20 millones de personas en todo el mundo. La fecha exacta y el lugar de la aparición inicial de la IP se desconocen, pero los observadores declararon que se vieron casos en agosto de 1918 en granjas de Illinois occidental. Aunque la infección y enfermedad pueden haber existido en las poblaciones de cerdos antes de esa fecha.^{6, 9}

En Europa se observó el subtipo H₁N₁ en Checoslovaquia, Reino Unido y Alemania entre 1940-1950. Posteriormente la enfermedad no se describe hasta 1976, cuando la IP surgió nuevamente en granjas al norte de Italia. Los virus responsables de estos primeros brotes estaban muy relacionados con los virus H₁N₁ clásicos y probablemente habían ingresado a Italia con un embarque de cerdos de los Estados Unidos.⁶

En 1979 aparecieron epizootias de VIP subtipo H₁N₁ en Francia, Bélgica, Holanda, Alemania y países de América. Los virus aislados en Europa después de 1979 estaban relacionados con el subtipo H₁N₁ y es probable que haya sido transmitido al cerdo por los patos. Estos virus son más invasivos que los virus de Estados Unidos, produciendo brotes devastadores y de amplia distribución.⁶

En Gran Bretaña, sin embargo la situación no fue la misma que en el continente americano. Comenzando en 1986 con el subtipo clásico similar al VIP de Estados Unidos circuló con prevalencia moderadamente alta, pero fue de importancia clínica menor. En 1992 un gran aumento de enfermedades respiratorias se asoció al aislamiento de un subtipo H₁N₁.⁶

En Estados Unidos, el subtipo que más está presente es el H₃N₂ el cual se ha aislado principalmente en Indiana, y el otro subtipo que se ha aislado también es el H₁N₂, que causa problemas respiratorios, fiebre, letargia, inapetencia y aborto en algunos casos; este último subtipo se aisló en un estudio realizado en pavos.³

IMPORTANCIA EN SALUD PÚBLICA

En 1918, el último año de la Primera Guerra Mundial, hubo otro factor que comenzó a derribar a los soldados, nadie sabe con exactitud cuándo o dónde surgió la gripe española (subtipo H₁N₁), pero no fue en España. Este país por ser neutral no tuvo censura en tiempos de guerra y probablemente se adjudicó ese falso origen a la gripe debido a las noticias sobre algunos casos ocurridos allí en mayo de 1918, la enfermedad se propagó en ambos lados del frente Europeo y aniquiló divisiones enteras durante la primavera y principios del verano. Sin embargo, la gripe regresó al verano siguiente y en esa ocasión su virulencia fue evidente. Los enfermos yacían en cama con fiebre, dolores de cabeza agudos, y dolor en articulaciones. Murió alrededor del 5% de los enfermos en esencia por asfixia. Los médicos que realizaron las necropsias observaron que: los pulmones estaban pesados como esponjas empapadas, llenos de un líquido con sangre. Después de avanzar rápidamente por los

campos militares, y los barcos de guerra en Europa y Estados Unidos, la gripe se propagó entre la población civil de puertos y ciudades industriales, para finales de 1918 la enfermedad se había extendido desde el pacífico sur hasta el ártico. Más de veinte millones de personas murieron, por lo menos tres veces más que en la guerra.^{11, 12, 14} (Imagen 1)



Imagen 1. La pandemia de 1918, provocó la muerte de más de cincuenta millones de personas, tres veces más que la guerra.¹⁴

Para 1957 – 1958 la gripe asiática (subtipo H₂N₂) mató a setenta mil personas en Estados Unidos. Se detectó por primera vez en China, en 1957 y llegó a Estados Unidos en junio de ese año. La muerte sobreviene por una neumonía bacteriana contraída después de que la influenza debilita los pulmones.¹²

En 1968 – 1969 la gripe de Hong Kong (subtipo H₃N₂), causó treinta y cuatro mil muertos en Estados Unidos, al igual que con la gripe asiática, la muerte se produjo debido a una neumonía bacteriana.¹² (Imagen 2)

Un hito mayor de la influenza zoonótica se produjo en enero de 1976 con el aislamiento del virus de la influenza A/NJ/8/76 (H₁N₁) estrechamente relacionado con los virus de los reclutas militares enfermos en el fuerte Dix de New Jersey. Se habían registrado muchos casos de enfermedad respiratoria aguda y las investigaciones serológicas revelaron que había cientos de reclutas infectados. Las investigaciones no pudieron identificar cerdos enfermos o

infectados que pudieran haber sido la fuente del virus para ese brote. Existía la preocupación de que el virus fuera la nueva cepa epidémica de influenza para el hombre, o quizás el retorno del virus responsable de la epidemia de 1918. Por consiguiente se inició un programa nacional para vacunar a los seres humanos contra el virus A/NJ/8/76 (H₁N₁) y también se inició un programa de vigilancia para investigar a los cerdos y sus contactos con los humanos.⁶

El VIP es una zoonosis, ya que puede infectar a los humanos, y viceversa el virus de la influenza humana ha sido aislado de los cerdos.² La presentación clínica del VIP ha cambiado en los últimos 10 años. No sólo considerando la evolución de cepas nuevas, sino también en el patrón de la enfermedad. Históricamente se caracteriza por tener una alta morbilidad y baja mortalidad.¹⁰

La especulación sobre la naturaleza zoonótica del VIP terminó en noviembre de 1976 cuando se aisló el subtipo H₁N₁ a partir de cerdos y su cuidador en una granja de Wisconsin del sur. Los cerdos habían estado enfermos durante dos o tres días con los signos clínicos clásicos de IP cuando uno de los cuidadores también se enfermó.⁶

Año	Nombre coloquial y Subtipo	Fuente	Impacto	
1918	"Gripe española" (virus H1N1 similares a influenza porcina)	Posible emergencia desde un huésped porcino o aviar de un virus H1N1 mutado.	Pandemia con más de 20 millones de muertes globalmente.	P A N D E M I A S
1957	"Gripe Asiática" (H2N2)	Posible infección mixta de un animal con una cepa humana H1N1 y una cepa aviar H2N2 en Asia.	El virus H1N1 sustancialmente pandémico desapareció.	
1968	"Gripe de Hong Kong" (H3N2)	Alta probabilidad de una infección mixta de un animal con una cepa humana H2N2 y una cepa aviar H3Nx en Asia.	El virus H2N2 sustancialmente pandémico desapareció.	
1977	"Gripe Rusa" (H1N1)	Fuente desconocida, pero el virus es casi idéntico a las cepas epidémicas humanas de 1950. Reaparición detectada casi al mismo tiempo en China y en Siberia.	Pandemia benigna, involucrando primariamente a personas nacidas después de los años 50. El virus H1N1 ha co-circulado con el virus H3N2 en humanos desde 1977.	
1976	Influenza Porcina (H1N1)	New Jersey, Estados Unidos. Virus enzoótico en manadas de cerdos en los Estados Unidos desde al menos 1930	Brote localizado en un campo de entrenamiento militar, con un caso fatal.	A L G U N O S I N C I D E N T E S C O N L I M I T A D A P R O P A G A C I O N E N H U M A N O S
1986	H1N1	Holanda. Virus porcino derivado de una fuente aviar.	Un adulto con neumonía severa.	
1988	Influenza porcina (H1N1)	Wisconsin, Estados Unidos. Virus porcino.	Mujer embarazada muerta después de exponerse a un cerdo enfermo.	

1993	H3N2	Holanda. Reasortante porcina entre una "vieja" cepa humana H3N2 (1973/75) y una H1N1 aviar	Dos niños con una enfermedad leve. El padre infectado por cerdos sospechosos de ser los transmisores.	A L G U N O S I N C I D E N T E S C O N L I M I T A D A P R O P A G A C I O N E N H U M A N O S
1995	H7N7	Reino Unido. Virus de pato	Un adulto con conjuntivitis	
1997	"Influenza de pollos" (H5N1)	Hong Kong RAE. Aves de corral	18 casos humanos confirmados, 6 letales.	
1999	H9N2	China, Hong Kong RAE. Virus de influenza similar al de codorniz	2 casos humanos con una enfermedad leve.	

Imagen 2. Principales hitos a lo largo de la historia de las pandemias causadas por el virus de la influenza.⁴²

A lo largo de la historia en la transmisión del VIP, con producción de enfermedad respiratoria aguda o fatal en los seres humanos en contacto con cerdos, constituye un indicio claro del potencial zoonótico de los virus de influenza que infectan al cerdo y el papel potencial de éste en la transmisión de nuevas cepas pandémicas a los seres humanos. En vista de que diariamente hay miles de interacciones humano-cerdo en situaciones profesionales y casuales, el potencial zoonótico del VIP debe reconocerse y respetarse.⁸

En general la población humana es susceptible al virus de la influenza A y puede ser la base de nuevas pandemias.¹³

Por un tiempo se pensó únicamente que los virus de las aves pueden ser transmitidos a los humanos, pero se ha visto que hay recombinaciones de los virus de los cerdos y los humanos.¹³ Se considera que la Hemoaglutinina (H) es la responsable para la adherencia del virus a los receptores de las células del huésped. En la tráquea del humano predominan los receptores α 2,6 Gal, mientras que en los intestinos de las aves predominan los receptores α 2,3 Gal, por lo tanto la transmisión entre seres humanos y aves, teóricamente no es posible; sin embargo, se ha sugerido un mecanismo de recombinación entre los virus de las aves y el humano, el cual involucra la presencia de un huésped intermediario. El cerdo se ha considerado como el principal intermediario entre las infecciones humanas y aviares, ya que posee ambos receptores.^{2, 11, 14}

Por lo tanto la IP tiene un gran impacto en la industria porcina, pero también en la salud pública ya que este virus es una zoonosis potencial por la aparición de nuevas variantes. El monitoreo de la IP no es sólo de importancia en medicina veterinaria sino también para evitar una nueva pandemia humana de Influenza.¹⁵

ETIOLOGÍA

El virus de la influenza tipo A, es un virus envuelto que pertenece a la familia *Orthomyxoviridae*. Los virus de la influenza son viriones pleomórficos de tamaño mediano, envueltos de glicoproteínas también conocidas como espículas que se proyectan desde la superficie.^{1,6} Estas espículas son los antígenos principales de superficie y son dos: la Hemoaglutinina (H) y la Neuroaminidasa (N). La H es la responsable de la unión del virus a las células y produce aglutinación de eritrocitos.² La N es la responsable de la elución

enzimática del virus de los eritrocitos y puede jugar algún papel en la liberación del virus de las células infectadas. Los anticuerpos antiheмоaglutinina son de mayor importancia en la prevención de la infección contra un virus de la influenza que contenga la misma H, mientras que los anticuerpos contra la N restringen la diseminación de virus a partir de las células infectadas. Las glicoproteínas H y N se encuentran en la envoltura lipídica que rodea el centro de la partícula vírica. Las moléculas de proteína de matriz (M) cubren la cara interna de la envoltura y rodean el centro, dentro del cual se encuentra un complejo helicoidal de moléculas que consisten en ácido ribonucleico (ARN) asociado a nucleoproteínas víricas (NP) y polimerasas (enzimas que inician la replicación).^{6, 20} (Imagen 3)

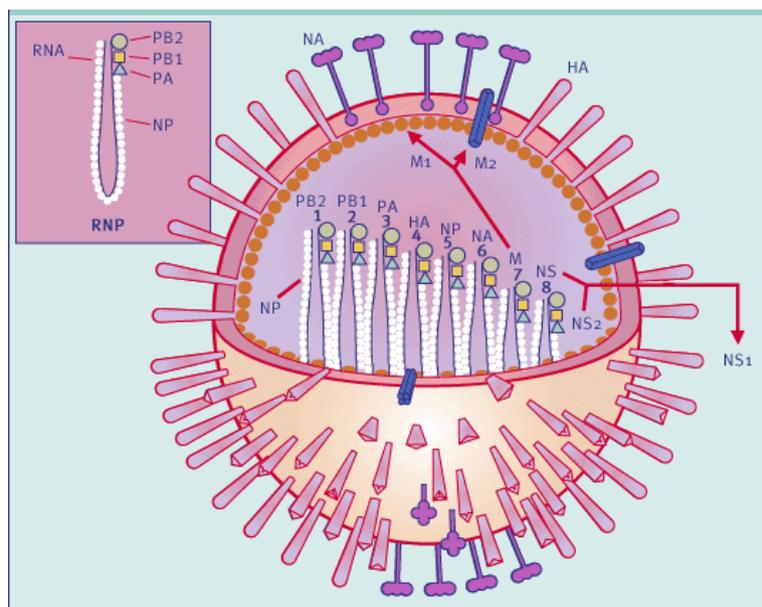
Los virus de la influenza se clasifican en tipo A, B, y C, en base a la relación antigénica de las NP y proteínas M. El genoma vírico consta de ocho segmentos de ARN de cadena simple que codifica a diez proteínas víricas. Se han identificado quince H y nueve N en todos los virus de la influenza.^{6, 13, 20, 21}

El sistema actual de nomenclatura del virus de la influenza, designa el tipo, huésped, lugar, número de cepa (si existe), año de aislamiento, y subtipo antigénico, por ejemplo el VIP aislado en Wisconsin en 1984 se designó A/Cerdo/Wis/1/84/(H₁N₁). El primer carácter A, identifica al tipo y es seguido por el huésped de origen (excepto cuando es humano), el origen geográfico, número de cepa, el año de aislamiento y el subtipo antigénico de la H y N entre paréntesis.^{6, 20}

Debido a que el ARN vírico es segmentado, puede haber intercambios genéticos o recombinaciones entre diferentes virus de influenza A en el curso de infecciones mixtas. La recombinación genética entre virus de la influenza del

hombre y los de origen no humano se considera un mecanismo probable de aparición de nuevas cepas pandémicas humanas. Por la estructura del virus de la influenza es factible se presente evolución genética. Si dos o más virus infectan una misma célula huésped, pueden intercambiar segmentos creando así nuevos genotipos víricos. Una de las características más importantes del virus de la Influenza es la habilidad para mutar y producir nuevos subtipos diferentes en cuanto patogenicidad y antigenicidad que de los que precede.⁵

La mayoría de los cambios genéticos en los virus de la influenza humana, porcina y aviar, son sutiles y pequeños, o mutaciones en los cuales genes completos son reemplazados.^{4, 17}



Segmentos de RNA	Nucleótidos	Proteínas
1	2341	Polimerasa PB ₂
2	2341	Polimerasa PB ₁
3	2233	Polimerasa PA
4	1778	Hemaglutinina HA
5	1565	Nucleoproteína NP
6	1413	Neuraminidasa NA
7	1027	Proteína matriz M ₁ Proteína matriz M ₂
8	890	Proteína no estructural NS ₁ Proteína no estructural NS ₂

Imagen 3. Estructura del virus de la Influenza⁶

Varios subtipos del virus de la influenza tipo A, han sido informados en humanos y otros animales. Su caracterización se basa en las diferencias del material genético de sus H y N. En producción porcina se conocen tres subtipos: el H₁N₁, el H₃N₂, y el H₁N₂. En Estados Unidos el subtipo que prevalecía exclusivamente era el H₁N₁. Sin embargo el subtipo H₃N₂ que tiene genes que derivan del virus de la influenza humana, porcina y aviar, ha sido evidenciado desde 1999 y poco tiempo después de aparecer éste, apareció el H₁N₂.^{2, 16}

El subtipo H₁N₂ fue una combinación del VIP clásica H₁N₁ y del H₃N₂, híbrido que la mitad de sus genes derivan de las proteínas de recubrimiento del VIP clásica y la mitad de sus genes internos de la influenza aviar y humana. La H deriva de la IP clásica y parece estar mutando muy rápido.¹⁷

La mitad de los virus aislados en granjas porcinas en Estados Unidos en el 2001, son similares a los aislados en la década de 1960 e inicios de 1990. Si se llegaran a acumular suficientes mutaciones como la descrita anteriormente, podría cambiar tanto que sería irreconocible por el sistema inmunológico de cerdos y humanos.¹⁷

El subtipo H₁N₁ ha sido y sigue siendo el padecimiento más importante para los cerdos en Estados Unidos. Ahora el H₃N₂ se ha establecido, diseminado, y recientemente se han descubierto nuevas recombinaciones del virus.¹⁸

SIGNOS CLÍNICOS

Este virus está asociado a enfermedades respiratorias en cerdos de todas las edades y abortos en hembras gestantes.² Los signos clínicos varían

dependiendo del tipo de animales y del estado inmunológico de la población porcina.⁵

El comienzo es súbito, después de un periodo de incubación de 1-3 días. La mayoría de los animales de la piara muestran signos al mismo tiempo. Hay anorexia, inactividad, postración, los animales se agrupan y se amontonan.^{5, 6}

También se observa: respiración jadeante, entrecortada, y laboriosa que puede estar acompañada de tos parecida al ladrido de un perro, hay fiebre alta (40.7 – 42.5 °C).^{4, 6, 5,} (Imagen 4)

Además se puede observar conjuntivitis, rinitis, descargas serosas nasales y estornudos, pérdida de peso. La morbilidad es alta (100%) pero la mortalidad es baja (1%) a menos que haya otras infecciones o los cerdos sean demasiado jóvenes. En general, la recuperación empieza de cinco a siete días después del inicio y es tan súbita y notable como el comienzo. Los brotes agudos de IP clínicamente típica, como el descrito anteriormente suelen limitarse a cerdos totalmente susceptibles y seronegativos.⁶

Además de la enfermedad clínicamente evidente, con frecuencia hay enfermedades subclínicas, como lo indica la alta prevalencia de los subtipos H₁N₁ y H₃N₂ en cerdos en la etapa de finalización, en ausencia de enfermedades respiratorias en la etapa de crecimiento. Existen múltiples factores que pueden determinar el resultado clínico de una infección con virus de la influenza, incluyendo el estado de inmunidad y la edad, infecciones intercurrentes, condiciones climáticas y alojamientos. Aunque la infección puede ocurrir durante todo el año, la enfermedad clínica es más común durante las estaciones frías.⁶

Las infecciones intercurrentes se encuentran entre los factores más importantes que complican una infección con virus de influenza. Se ha sabido por años que las infecciones secundarias por bacterias respiratorias como: *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Haemophilus parasuis*, y *Streptococcus suis*, complican la gravedad y curso de la infección, por eso se ha visto que el problema cede un poco con la administración de antibióticos.^{5, 10} También se ha observado que otros virus complican el curso de la infección como el síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRS). El cuadro clínico asociado es menos característico que el de los brotes de IP aguda y sólo el 20–50% de los cerdos de la piara muestran problemas de enfermedad respiratoria, fiebre y pérdida del apetito. No obstante existen pérdidas financieras como resultados de los costos altos de medicación, y del mal rendimiento general.⁶



Imagen 4. La respiración de los cerdos es jadeante, entrecortada y laboriosa, puede estar acompañada de tos parecida al ladrido de un perro y fiebre alta.⁶

Algunas veces se ha informado de problemas reproductivos, como abortos, animales nacidos muertos, camadas débiles y pequeñas asociadas a brotes de IP.^{6, 22}

EPIDEMIOLOGÍA

La primera aparición de IP en una población de cerdos suele asociarse con el movimiento de animales, por ejemplo, con la introducción de pie de cría de piaras infectadas a piaras susceptibles.^{5,15} Por lo común se describe que los brotes son explosivos, enfermándose todos los cerdos de la piara al mismo tiempo. Sin embargo se observan a varios cerdos con signos de enfermedad 2-5 días antes de que la piara entera se infecte.⁶

Se presume que la principal vía de transmisión es directa, cerdo a cerdo, por vía nasal. Las secreciones nasales están cargadas de virus durante las fases febriles agudas de la infección, proporcionando una fuente abundante para infectar a los animales susceptibles.²¹ El cerdo se infecta rápidamente por procedimientos experimentales como instilación de suspensiones del virus en las narinas o por exposición de aerosoles de pequeñas partículas. La transmisión por contacto se demuestra fácilmente bajo condiciones experimentales. En regiones densamente pobladas de cerdos, la diseminación por el aire puede contribuir a las epidemias explosivas en grandes áreas geográficas, en particular en áreas con una población inmunológicamente susceptible.⁶

Una vez que la infección ha aparecido en una población porcina o en cualquier situación donde no hay despoblación total, existe la posibilidad de circulación continua del virus. Bajo estas condiciones los cerdos pueden infectarse a una edad muy temprana, cuando la inmunidad materna decae. En la mayoría de los casos, sin embargo, los virus de la influenza desaparecen de una piara después de un brote. Dependiendo de su prevalencia en una región particular, los virus pueden introducirse en algún momento posterior (meses o años)

causando infecciones en el pie de cría y la engorda. La distribución del virus de la influenza y los subtipos prevalentes son diferentes en distintas partes del mundo y puede haber diferencias regionales dentro de un país o continente.⁶

En el curso de los años se ha especulado acerca de un estado de portador que explicaría la permanencia inter-epizoótica del VIP. La amplia incidencia de IP en los Estados Unidos y otras partes del mundo durante todo el año apoya la posibilidad de que el virus esté circulando constantemente.⁶

La influenza tipo A puede transmitirse entre humanos, cerdos y aves y puede ser transportado por aves migratorias o acuáticas, lo que representa un riesgo muy alto de transmisión.^{5, 13} (Imagen 5)

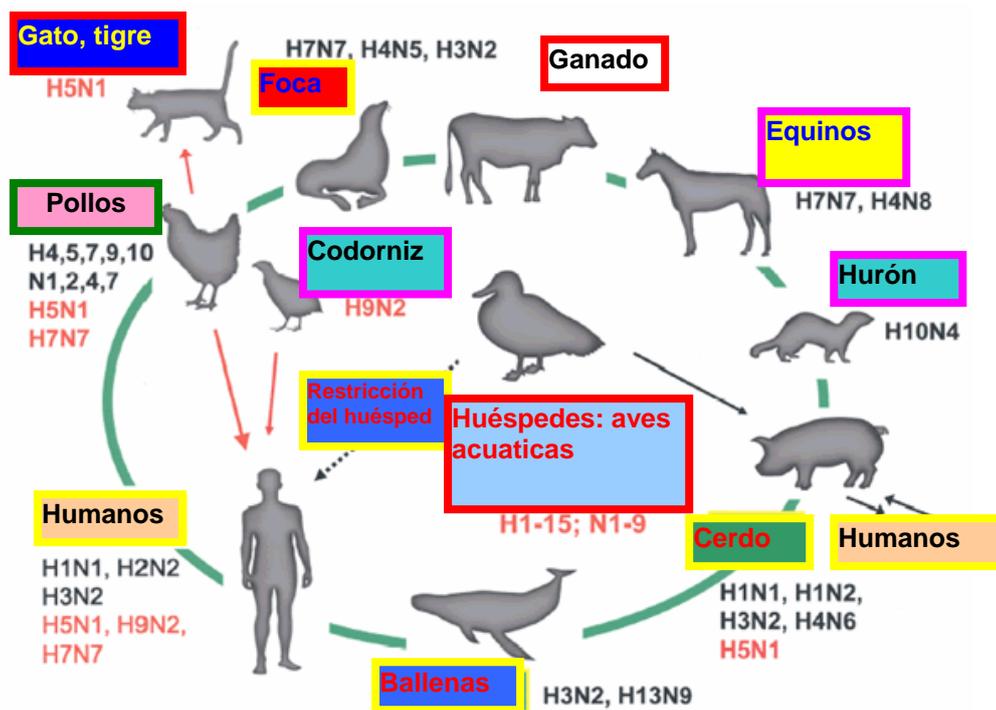


Imagen 5. Los virus de la influenza A infecta a muchas especies diferentes en la naturaleza, como a las aves, mamíferos e incluso al hombre.⁶

LESIONES

Macroscópicas

Las lesiones macroscópicas encontradas en la IP no complicada son fundamentalmente las correspondientes a una neumonía vírica. Los cambios se limitan a menudo a los lóbulos apical y cardiaco de los pulmones, aunque en casos graves, más de la mitad del pulmón puede estar afectada, en general existe una línea neta de demarcación entre el tejido pulmonar afectado y el normal. Las zonas afectadas son las de color púrpura y están consolidadas. Puede evidenciarse cierto grado de edema interlobulillar. Las vías aéreas pueden estar llenas de un exudado fibrinoso teñido con sangre y los nódulos linfáticos del mediastino y bronquios suelen encontrarse agrandados. En casos graves puede haber pleuritis fibrinosa.⁶

Microscópicas

Histológicamente puede observarse una degeneración diseminada y necrosis del epitelio de bronquios y bronquiolos, las luces de los bronquios, bronquiolos y alvéolos están llenas de exudado que contiene células de descamación y neutrófilos, y más tarde principalmente por monocitos, además hay hiperemia variable con dilatación de capilares e infiltración de los tabiques alveolares con linfocitos, histiocitos y células plasmáticas. Una extensa atelectasia alveolar, neumonía intersticial y enfisema acompañan a estas lesiones. Hay también infiltración celular peribronquial y perivascular.⁶

DIAGNÓSTICO

Aislamiento Viral

Se puede realizar de secreciones respiratorias con un hisopo nasal o de pulmón. Las muestras deben ser tomadas en los primeros cuatro días de la infección para aumentar la probabilidad de lograr el aislamiento. Existen dos opciones para lograr el aislamiento; la primera consiste en la utilización de diversas líneas celulares que permiten el crecimiento del virus, como las de riñón de perro (MDCK.). Su elección es crítica para la sensibilidad del aislamiento, ya que las células de distintas procedencias, o incluso de diversos linajes dentro de una misma línea, permiten diferentes niveles de replicación viral dependiendo de la cepa circulante. La segunda opción consiste en utilizar embriones de pollo de siete a diez días de edad, en los cuales es más probable lograr el aislamiento, por lo que su uso es mayor que el cultivo celular, sin embargo, hay que considerar la disponibilidad de embriones libres de patógenos específicos, así como el costo de estos. La detección viral se realiza de animales enfermos, los hisopos deben ser colectados de cerdos con fiebre, en algunos casos pueden tomarse muestras de hembras abortadas con un cuadro agudo de influenza, colectando de cuatro a diez hembras gestantes, en estado febril, que hayan dejado de comer. El pulmón de animales en fase aguda también puede ser una muestra útil para el aislamiento viral. Este debe provenir de animales con fiebre y con descarga nasal serosa, hay que tomar en cuenta que la fase viral aguda es de corta duración, normalmente menor a siete días.²³

La limitante para ambos casos es el tiempo que tarda realizarlo, ya que por lo regular es necesario realizar dos o hasta tres pases para poder detectar la

presencia viral, implicando aproximadamente de quince a veintiún días para obtener un resultado, no hay que olvidar que influye de manera importante la toma oportuna de la muestra en fase aguda. Cabe mencionar que a través del aislamiento viral, no es posible diferenciar entre virus de campo y el vacunal.²³

Un diagnóstico más preciso implica la caracterización antigénica del virus de influenza, mediante la técnica de inhibición de la hemoaglutinación (IH) utilizando antisueros específicos para confrontarlos con los aislamientos obtenidos; considerando significativa una reducción mayor o igual a cuatro veces el título del virus a caracterizar.²³

Inmunohistoquímica

Es una técnica rápida que se basa en la detección del virus de influenza en cortes de tejido fijados en formol o a partir de hisopos nasales, mediante el uso de anticuerpos monoclonales contra el tipo A y detecta ambos subtipos, el H₁ y H₃ ya sea de virus de campo o vacunal. Es una prueba con alta sensibilidad y disponibilidad, sin embargo, la limitante es la disponibilidad de anticuerpos monoclonales para su realización.²³

Inmunofluorescencia

Esta prueba proporciona resultados rápidos y fiables. Es el método más barato, pero necesita un elevado nivel de experiencia para su interpretación y no se puede automatizar. La calidad de los reactivos utilizados es crítica para la obtención de buenos resultados. Los anticuerpos monoclonales han supuesto una importante mejora, al atenuar, en gran medida, los problemas de las reacciones inespecíficas asociadas al uso de antisueros policlonales. La desventaja es la disponibilidad de los anticuerpos monoclonales.²³

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La más reciente alternativa para establecer un diagnóstico rápido de la IP, es la PCR, la cual se utiliza para evidenciar la presencia del ácido nucleico y determinar el subtipo a partir de pulmón y de hisopos nasales.²³

Su elevada sensibilidad y especificidad, la convierten en una excelente herramienta de diagnóstico y es la técnica base para la caracterización genética de estos virus. En su diseño, hay que tener presente la gran capacidad de variación de estos virus por lo que, en la identificación de los subtipos A, B y C, la elección de iniciadores se ha enfocado sobre genes internos conservados, como el de la proteína matriz, mientras que para la determinación del subtipo se buscan las regiones más conservadas dentro de cada gen H o N.²³

Una reciente innovación al diagnóstico por PCR, aplicada con éxito a los virus de influenza, constituye la PCR en tiempo real, que ofrece resultados cuantitativos, rápidos y sensibles, con menor probabilidad de contaminación.²³

La caracterización ha recibido un gran impulso gracias a las técnicas moleculares. Los productos de amplificación obtenidos con iniciadores que amplifican regiones de alta variabilidad genética pueden analizarse por secuenciación u otras técnicas, como el análisis del polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFPL), este tipo de análisis, con el complemento de los análisis antigénicos, ayudan a decidir el diseño actual de las vacunas en medicina veterinaria y son utilizados para detectar la redistribución de genes, o para elucidar el origen y la evolución de los virus de influenza.²³ (Imagen 6)

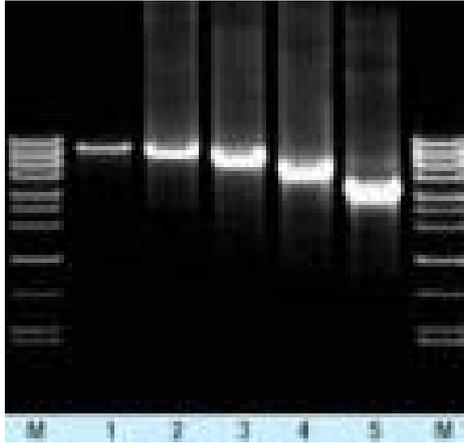


Imagen 6. La más reciente alternativa para establecer un diagnóstico rápido de la IP, es la PCR, la cual se utiliza para evidenciar la presencia del ácido nucleico y determinar el subtipo a partir del pulmón y de hisopos nasales.²³

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS

Los estudios serológicos se basan en demostrar un aumento significativo del título de anticuerpos entre el suero colectado en la fase aguda de la enfermedad y durante la convalecencia del animal. Las técnicas que se han empleado o se utilizan actualmente, son las siguientes:

Fijación del complemento (FC)

La técnica de FC mide anticuerpos específicos a la nucleoproteína. Es una técnica laboriosa y con una sensibilidad baja, por lo que su uso se ha reducido prácticamente.²³

Inhibición de la hemoaglutinación (IH)

Es la prueba básica que se realiza actualmente en diferentes laboratorios. Se detectan anticuerpos contra la H y para cada subtipo. Títulos iguales o mayores a cuarenta son considerados positivos y específicos. Títulos de diez y veinte pueden ser reacciones no específicas.²³

Como la IH está basada en el fenómeno de la hemaglutinación de virus, una sencilla IH no puede ser usada para detectar ambos subtipos, a menos que se utilicen de manera independiente los antígenos para realizar la prueba.²³

Sus resultados se correlacionan bien con la capacidad neutralizante y protectora frente a la reinfección por virus homólogos, por lo cual se utiliza para medir respuestas a la vacunación; es decir frente a los antígenos específicos de subtipo. Sus mayores inconvenientes son la sensibilidad a los inhibidores no específicos presente en los sueros y las reacciones cruzadas entre las cepas del mismo subtipo.²³

Pruebas Inmunoenzimáticas (ELISA)

La prueba detecta de acuerdo al subtipo que esta cubriendo las placas; en la actualidad existen marcas comerciales disponibles para la detección de los subtipos H₁N₁ y H₃N₂. Es una prueba de alta sensibilidad y especificidad además de ser rápida, fácil y tiene la ventaja de poderse automatizar. Su limitante es el costo en comparación con la prueba de inhibición de la hemoaglutinación. La ELISA no detecta anticuerpos a todos los virus de campo H₁ con igual sensibilidad.^{19, 23} (Imagen 7)

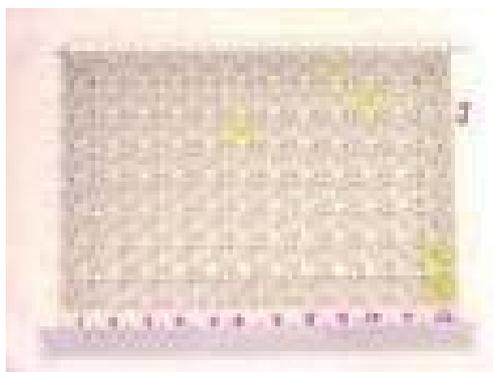


Imagen 7. ELISA es una prueba de alta sensibilidad y especificidad además de ser rápida y fácil, tiene la ventaja de poderse automatizar.

TRATAMIENTO Y CONTROL

No hay ningún tratamiento específico para la IP. Por lo común se han usado antibióticos y otros tratamientos antimicrobianos con el objeto de controlar las infecciones bacterianas coexistentes o secundarias.⁶ Los antibióticos que se utilizan son principalmente: penicilina, tetraciclina, y lincomicina.¹⁰

Las medidas de bioseguridad son muy importantes para impedir que los animales susceptibles entren en contacto con los animales infectados.⁶

Se deben de tener buenas medidas de seguridad como: buena localización geográfica de la granja (distancia entre granjas), control de acceso de personas y vehículos a la granja, y control de fauna nociva como es el caso de las aves.⁵

La vacunación contra el subtipo H₁N₁ y H₃N₂ es una práctica común en las granjas porcinas en los Estados Unidos.²¹

En 1994 se produjo una vacuna a partir de virus inactivado, esta provee protección contra el subtipo H₁N₁, pero no contra otros subtipos.⁵ Para 1995 la vacunación contra la IP comenzaba a utilizarse. En el 2000 una encuesta hecha por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) estableció que el 44% del pie de cría de los Estados Unidos fueron vacunados.¹⁷

Varios estudios de vacunas efectivas se publicaron a mediados de la década de 1980, pero parece que hubo poco interés en el desarrollo de una vacuna convencional, no fue sino hasta principios de la década de 1990 cuando se desarrollo una vacuna contra el VIP, específicamente contra el subtipo H₁N₁. Las vacunas disponibles actualmente son: contra los subtipos H₁N₁, H₃N₂ y H₁N₂.¹⁰

También hay estudios en los que se ha utilizado el *Sacharomyces cerevisiae*, el cual al administrarlo por vía oral ha tenido un efecto antiviral favorable por la producción de interferón γ y óxido nítrico en el pulmón de cerdos infectados experimentalmente con el virus de la influenza. Los macrófagos juegan un papel importante en la inmunidad no específica, y uno de los receptores del β glucano se encuentran en estos, el β glucano favorece a una respuesta inmediata de las células T citotóxicas, respuesta que contribuyó al control de la infección dada por el VIP subtipo H₁N₁ de manera experimental.²⁴

SITUACIÓN DE LA IP EN MÉXICO

Desde hace algunos años se ha comenzado a evaluar la presencia del VIP en México, en un estudio que se realizó a nivel de rastro, se demostró la presencia del VIP subtipo H₁N₁.²⁵ La presencia de anticuerpos contra el VIP ha sido demostrada en México, con lo que se ha evidenciado la presencia del subtipo H₃N₂, del cual no existían informes anteriores, por lo que ya está siendo tomado en cuenta para el diagnóstico de esta enfermedad.²⁶

En el año 2005 se realizó un estudio retrospectivo para detectar anticuerpos contra el VIP de sueros colectados a partir del año de 1972 al 2000, en el cual la mayoría de las muestras estudiadas resultaron negativas. Se detectó la presencia de anticuerpos contra IP a partir del año de 1979 al año 1980. Los anticuerpos se volvieron a detectar a partir del año de 1989, posteriormente las muestras positivas se presentan de manera intermitente y para el año de 1998 se presentó el mayor número de muestras positivas.²⁷

Han existido estudios sobre el patrón de distribución de anticuerpos contra el virus de la IP subtipos H₁N₁ y el H₃N₂ en granjas de Yucatán donde se encontró

una mayor incidencia del subtipo H₃N₂ que del H₁N₁ en las distintas etapas de producción, sin embargo esta enfermedad se ha asociado al complejo respiratorio porcino y a otros agentes como el *Mycoplasma hyopneumoniae* pero en México aún no se ha demostrado su participación en estas enfermedades, mientras que en otros países como Estados Unidos ya ha sido documentada.^{25, 28, 29}

En otro estudio realizado con muestras procedentes de diversos estados de la Republica Mexicana se demostró que el estado con una mayor prevalencia del subtipo H₃N₂ fue Puebla.³⁰

Entre los factores que favorecen la presentación de la IP se encuentra el tipo de sistema de producción, el cual puede ser un factor determinante debido al elevado número de animales susceptibles de diferente edad y estado inmunológico, que están dentro del proceso productivo de las granjas.¹⁰

El proceso productivo en las granjas porcinas consta de una serie de etapas:

- Servicio, Gestación, Maternidad, Destete, Crecimiento y desarrollo y Finalización.

Las cuales pueden desarrollarse juntas o en sitios distintos.³¹

TIPOS DE GRANJAS EXISTENTES EN MÉXICO

Las granjas porcícolas se encuentran ampliamente distribuidas en el territorio nacional, en tres estratos de producción: el tecnificado, el semitecnificado y el de traspatio. El primero utiliza tecnologías empleadas en las naciones más desarrolladas en porcicultura, por lo que muchas granjas alcanzan un grado de integración vertical y horizontal, disponiendo de plantas de alimentos

balanceados, con sistemas automatizados de balanceo de raciones e inclusive de plantas procesadoras de oleaginosas; sus medidas de bioseguridad son estrictas para el control de las principales enfermedades, cuentan con rastros Tipo Inspección Federal (TIF), y se estima que la participación de este estrato en el mercado nacional es aproximadamente del 50%.³²

En el estrato semitecnificado, la producción es generalmente reducida y aunque en muchas ocasiones el pie de cría es similar al del sistema tecnificado, las instalaciones y las medidas zoonosanitarias no son óptimas. Este sistema emplea alimentos balanceados comerciales, con lo que aumentan los costos de producción y la industrialización se realiza en rastros municipales o privados. Este sistema aporta el 20% al mercado doméstico.³²

El tercer estrato de producción, conocido como de traspatio, rural o de autoabastecimiento, se encuentra en todo el territorio nacional, la calidad genética de los animales es pobre aunque su rusticidad y adaptación al medio les permite producir carne con un mínimo de manejo de nutrimentos, los cuales provienen de subproductos y granos. Se estima que este sistema de producción contribuye con el 30% de la producción nacional.³²

Debido a la presencia de enfermedades que afectan la economía, se han diseñado nuevos sistemas de producción para controlarlas, como mantener en un edificio, animales de la misma edad en granjas de un solo sitio y como la segregación completa de la población.³³

El sistema todo dentro todo fuera, utilizado en áreas de maternidad y destete, se ha adaptado como una necesidad en las áreas subsecuentes. El mantener cerdos de edades, parecidas en la misma área ayuda a reducir la acción de los

patógenos, lo que provoca que la población sea más homogénea, con mayor crecimiento y que tenga mejor conversión alimenticia.³³

Tradicionalmente las granjas mantenían sus operaciones porcícolas en un solo lugar, esto se refiere a un solo sitio de producción, donde todas las etapas se encuentran en un solo edificio o en varios edificios separados por diez o veinte metros aproximadamente. El método de dos sitios, consiste en separar a los animales de crecimiento y finalización de las hembras de pie de cría, en edificios separados o en otra granja. El sistema de multisitios se emplea en granjas con 5000 vientres donde las diferentes etapas se llevan a cabo en edificios separados (aproximadamente 2-3 kilómetros de distancia de cada edificio). El motivo de este tipo de granjas es que los costos se ven reducidos, asimismo el control de algunas infecciones es más fácil, obteniendo así parámetros productivos más altos.³⁴ Evitando el contacto de los animales de la línea de producción con las hembras y machos de pie de cría, poniendo a estos últimos en un sitio uno y a las áreas de destete a finalización en un sitio dos. Las áreas de estas granjas no difieren en el tipo de instalación de las que tienen las convencionales de un solo sitio. No obstante, los sistemas que siguen el destete temprano medicado, de manera estricta, deben de tener tres edificios especializados para recibir cerdos destetados a los cinco días de edad y en un sitio aislado.³³

A partir del surgimiento de este tipo de producción, se busca no sólo la disminución de las enfermedades, sino reducir las situaciones que hacen a los cerdos susceptibles de adquirir enfermedades por situaciones estresantes, como los movimientos de cerdos de un edificio a otro.^{33, 34}

Es necesario considerar la existencia de una serie de riesgos que pueden afectar los resultados de producción; un ejemplo sería la presencia de problemas sanitarios causados por diversos agentes potencialmente patógenos y que bajo ciertas condiciones pueden causar enfermedades clínicamente observables. Estos microorganismos pueden encontrarse en cualquier tipo de explotación porcina, sin importar el tamaño de la operación ni nivel de producción. Lo anterior obliga a llevar a cabo un manejo especial y adecuado de los animales de diferentes áreas de producción, así como tener un mejor conocimiento y entendimiento de los procesos de enfermedad que pueden presentarse en una piara con el fin de prevenirlos y controlarlos.³⁵

Dentro de los factores relacionados con la presentación de enfermedades se debe considerar la interrelación de los cerdos con su ambiente y la presencia de microorganismos, lo cual deberá de guardar un estado de equilibrio, cuando éste se ve alterado se puede dar inicio a problemas clínicos. Generalmente, durante este proceso se encuentran abatidos los mecanismos de defensa de los individuos y en muchos casos, el factor condicionante es el estrés al que someten a los animales durante varias etapas de su vida productiva.³⁵

Con la finalidad de mejorar la situación sanitaria de los animales y de los sistemas de producción se crearon una serie de metodologías, que apoyadas por un programa de planeación y aplicación de éstas se puede mejorar en forma importante la productividad de las empresas porcinas. El desarrollo de este tipo de metodologías (las granjas de sitio múltiples) se inicia hacia el final de la década de 1980 y la aplicación de estos métodos de producción comercial ocurrió entre 1990 y 1992, dirigida especialmente a la prevención, el control y erradicación de enfermedades.³⁵

En todos los casos, los sistemas cuentan con instalaciones de sitio uno, sitio dos, y sitio tres. Sin embargo esto puede variar ya que, puede ocurrir que un sitio que tenga varias semanas de producción o bien cada semana de producción se aloje en una sola granja.³⁵

Estos sistemas de producción deben contar además, con sólidos programas de diagnóstico de enfermedades, que lleven a establecer programas estratégicos de medicación y uso de productos biológicos.³⁵

JUSTIFICACIÓN

Debido a la falta de información que existe en México sobre la IP subtipo H₃N₂ se justifica el desarrollo de un trabajo que genere datos acerca del comportamiento de esta enfermedad en los distintos sistemas de producción y tipos de cerdos.

HIPÓTESIS

Por el comportamiento y tipo de transmisión del VIP, no existe diferencia en la prevalencia del subtipo H₃N₂ entre los cerdos de pie de cría y engorda alojados en tres diferentes sistemas de producción: sitios múltiples, ciclo completo en un sitio de producción y en traspatio.

OBJETIVOS

1. Determinar si existe diferencia estadística entre los títulos de anticuerpos encontrados en cada sistema de producción examinado (sitios múltiples, ciclo completo en un sitio de producción y traspatio).
2. Determinar si existe diferencia en la presentación de anticuerpos contra IP subtipo H₃N₂ en animales de pie de cría y engorda procedentes de los diferentes sistemas de producción.

MATERIAL Y MÉTODOS

1- Sueros examinados

El trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de diagnóstico del Departamento de Producción Animal: Cerdos (DPAC) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. Se utilizaron muestras que corresponden al banco de sueros del DPAC colectadas durante el último semestre del año 2004 y el primero del 2005, a partir de muestras de sangre de cerdos de pie de cría y engorda de granjas de sitios múltiples, ciclo completo en un sitio de producción y de traspatio, procedentes de distintos estados de la República Mexicana. Se seleccionaron aquellas granjas que contaron con una historia clínica completa donde se pudo identificar el tipo de sistema de producción al que pertenecía y que no tuvieron antecedentes de vacunación contra el VIP. El total de granjas evaluadas fue de 10 para cada sistema de producción, considerando a cada granja como una unidad experimental.

2- Prueba serológica

Los anticuerpos se detectaron mediante la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (IH), conforme al protocolo de Znyder M.³⁶ Las diluciones de los sueros fueron a partir de 1:10 hasta 1:1280, considerándose positivo a partir de la dilución 1:80. Títulos inferiores a 1:80 fueron considerados como negativos.

3- Testigos

Se utilizó un suero testigo positivo, el cual es un suero hiperinmune polivalente contra el VIP serotipo H₃N₂ elaborado en conejo; un suero testigo negativo, el

cual se obtuvo a partir muestras de sangre de cerdos remitidas al DPAC que fueron libres de anticuerpos contra IP serotipos H₃N₂ y H₁N₁; un testigo con virus, el cual contiene solución amortiguadora de fosfatos (PBS), virus utilizado en la prueba con 8 Unidades hemaglutinantes (UH) y eritrocitos de ave al 0.5%; y un testigo con eritrocitos, el cual contiene PBS y eritrocitos de ave al 0.5%.

4- Virus

Se utilizó virus de referencia de influenza porcina subtipo H₃N₂ con un título de 8 UHA, donado al DPAC por Laboratorios Pfizer.

5- Análisis de la información

Se utilizó un modelo factorial que incluyó tres tratamientos y dos tipos de animales, pie de cría y engorda mismos que correspondieron a cada sistema de producción:

A1= Sitios múltiples.

A2= Ciclo completo en un sitio de producción.

A3= Traspatio.

De todos los sueros pertenecientes a tres categorías (T1, T2 y T3) se eligieron las correspondientes a diez granjas para cada tratamiento, incluyendo en cada granja animales de pie de cría y engorda.

Para el análisis de los datos se realizó una transformación logarítmica de los resultados a partir de las IH y así efectuar el análisis de varianza (ANOVA) y determinar la presencia de diferencia entre tratamientos a un nivel de significancia de $P < 0.05$, y con el siguiente modelo:

$$\hat{y}_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + E_{ijk}$$

La diferencia de medias se determinó mediante la prueba de Tukey.

Finalmente se realizó una prueba de *Ji-cuadrada* para evaluar las diferencias en los porcentajes de animales positivos y negativos por tratamiento.³⁷ Para el análisis de los datos se empleó el paquete estadístico JMP versión 2000.³⁸

RESULTADOS

Del total de los sueros analizados se encontró una seroprevalencia general del 47.8% (287 sueros positivos) para el subtipo H₃N₂ de ambas etapas (pie de cría y engorda), para el caso del pie de cría la seroprevalencia fue del 48% y para el caso de engorda fue del 47.6%. (Cuadro 1)

Cuadro 1. Número y porcentajes de sueros positivos al subtipo H3N2 por etapa productiva

ETAPA	POSITIVOS Número (%)	NEGATIVOS Número (%)
Pie de cría	144 (47)	156 (53)
Engorda	143 (47.6)	157 (52.3)

La moda en el título de anticuerpos en forma general incluyendo todas las muestras fue de 1:40. Al analizar la moda en el título por etapas, para el caso del pie de cría y engorda fue también de 1:40, mientras que, al analizar la moda para cada sistema se observó que para las granjas de sitios múltiples específicamente en el pie de cría la moda fue de 1:80 y en las granjas de traspatio en los animales de engorda fue de 1:160, en el resto la moda fue de 1:40. (Cuadro 2)

Cuadro 2. Moda de los títulos de anticuerpos por cada tipo de sistema y etapa productiva en forma general.

	SITIOS MÚLTIPLES	CICLO COMPLETO EN UN SITIO	TRASPATIO	TOTAL
PIE DE CRÍA	1:80	1:40	1:40	1:40
ENGORDA	1:40	1:40	1:160	1:40
				1:40

Con el análisis de resultados obtenidos a partir de las poblaciones en estudio (pie de cría y engorda), pertenecientes a tres distintos sistemas de producción (sitios múltiples, ciclo completo en un sitio de producción, y traspatio), se observó lo siguiente:

No se observó ningún efecto de interacción entre tipo de sistema y etapa productiva.

No se encontraron diferencias estadísticas ($P > 0.05$) al comparar las medias de los títulos de anticuerpos de las poblaciones en estudio: pie de cría (1:70, 1:50, y 1:67) y engorda (1:54, 1:56, 1:65), ni tampoco para los distintos tipos de granja: sitios múltiples, ciclo completo en un sitio de producción y traspatio. (Cuadro 3)

No se detectaron diferencias ($P > 0.05$) al llevar a cabo la comparación de los títulos de anticuerpos entre los dos tipos de población. Pie de cría (1:63) y de engorda (1:60), independientemente del sistema de producción. (Cuadro 3)

Cuadro 3. Promedio de títulos de anticuerpos por sistema de producción y etapa productiva.

	SITIOS MÚLTIPLES	CICLO COMPLETO EN UN SITIO	TRASPATIO	TOTAL
PIE DE CRÍA	1:70	1:50	1:67	1:63
ENGORDA	1:54	1:56	1:65	1:60
PROMEDIO	1:62	1:52	1:60	

En cuanto a la proporción de positivos y negativos en la población de pie de cría se observó una diferencia significativa ($P = 0.042$) siendo mayor la frecuencia de positivos en las granjas de sitios múltiples (58%) en

comparación con las granjas de ciclo completo en un sitio de producción (41%) y de traspato (45%) (Figura 1); mientras que en la población de engorda, aunque es mayor la proporción de anticuerpos en la población de traspato, no se observaron diferencias estadísticas ($P = 0.190$) entre las granjas de sitios múltiples (43%), ciclo completo en un sitio de producción (45%) y de traspato (55%). (Figura 2)

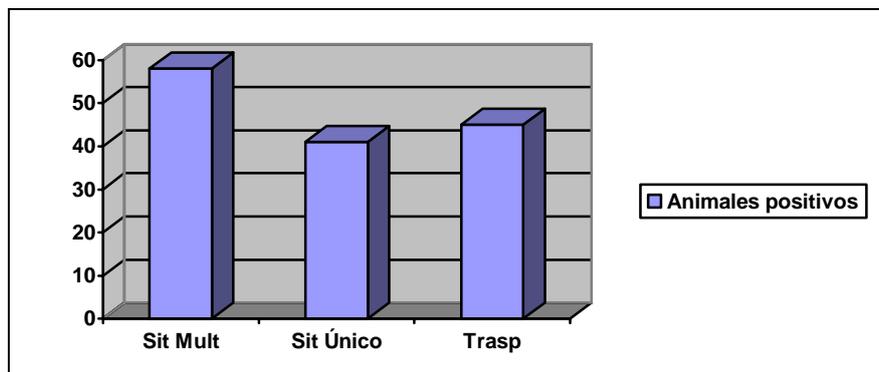


Figura 1: Frecuencia de títulos de animales positivos por sistema de producción en la etapa de pie de cría.

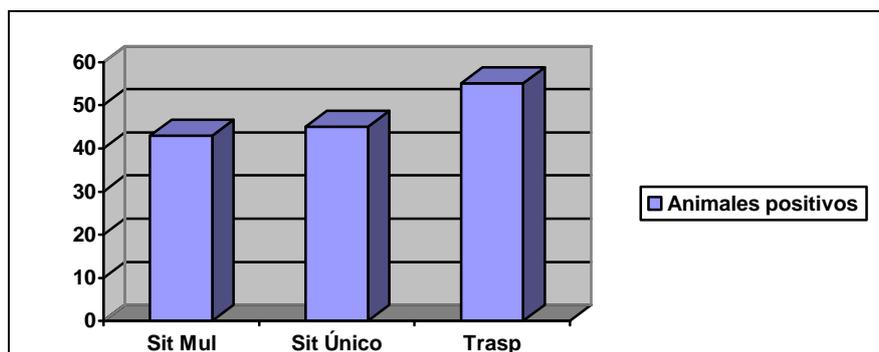


Figura 2: Frecuencia de títulos de animales positivos por sistema de producción en la etapa de engorda.

DISCUSIÓN

Las infecciones en cerdos domésticos con VIP ha sido demostrada en diversos países que cuentan con una producción intensiva de cerdos, sin embargo existen pocas publicaciones respecto a la distribución de la infección en animales de diferentes edades.³⁹

Del total de las muestras analizadas en este estudio el 44% fueron positivas a anticuerpos contra el VIP subtipo H₃N₂. Como se ha visto en estudios realizados en Estados Unidos a partir de sueros recolectados del año 1998 al 2001 de granjas con cerdos que tenían problemas respiratorios, se encontró: que de 111,418 sueros analizados el 22.8% tenían anticuerpos contra el VIP subtipos H₁N₁ y H₃N₂, de los cuales el 66.3% eran contra el subtipo H₁N₁ y el 37.7% eran contra el subtipo H₃N₂. En ese mismo estudio se encontró que de 3,561 muestras tomadas a partir de hisopos nasales de cerdos con problemas respiratorios, el 31.6% tenían anticuerpos contra ambos subtipos, de los cuales el 77.3% eran contra el subtipo H₁N₁ y el 22.7 % lo eran contra el subtipo H₃N₂.¹

Según los estudios realizados en Estados Unidos la seroprevalencia del subtipo H₃N₂ ha ido en aumento del año 1998 al 2001,²¹ En México ya ha sido demostrada la presencia del VIP en diversos estudios, asimismo ha habido estudios en los que se han encontrado anticuerpos contra el subtipo H₃N₂ desde 1979, lo que indica su diseminación en este país y varias partes del mundo.^{27, 28}

En el presente estudio, al llevar a cabo la comparación de los promedios de anticuerpos para el VIP entre las poblaciones en estudio y los sistemas de producción no se detectaron diferencias significativas. Aunque la repuesta

inmunológica al virus es similar en los distintos sistemas. La proporción de positivos es mayor en el caso de pie de cría en granjas de sitios múltiples, mientras que la respuesta en los animales de engorda no se ve afectada significativamente por el sistema de producción; sin embargo, se aprecia un aumento en la proporción de positivos en las granjas de traspatio, aunque está no resulta significativa.

La alta prevalencia en el pie de cría de las granjas de sitios múltiples podría estar dada porque en comparación con las de otros sistemas, éstas son mas grandes por lo tanto las naves grandes de cerdas o reproductoras tienen necesidades mayores de reposición, lo que hace que haya una gran exposición de patógenos.⁴⁰ También es importante tener en cuenta que los animales producidos en este tipo de sistemas padecen un reducido número de enfermedades, y poseen un estado sanitario elevado, que hace que los animales sean más susceptibles a ellas, cualquier descuido en los programas de prevención puede ocasionar la presentación de serios brotes de enfermedad, que en su momento requieren una mayor inversión en medicamentos y biológicos.³⁵

En estudios realizados en Estados Unidos, se ha mencionado que es común ver signos clínicos de IP en hembras de pie de cría y que posiblemente este patógeno tiene una mayor prevalencia en granjas de sitios múltiples.¹⁸

En un estudio realizado en Lituania y Polonia se buscaron anticuerpos contra el VIP subtipos H₁N₁, H₁N₂ y H₃N₂ en cerdos de diferentes edades, se demostró que la prevalencia de anticuerpos contra el VIP dependía de la edad de los animales, el subtipo que más estuvo presente en ambos lugares fue el H₁N₁. En Lituania la prevalencia de anticuerpos contra el VIP en hembras de primer

parto fue menor que en las demás etapas de producción, mientras que en Polonia hubo una mayor prevalencia de anticuerpos contra el VIP en las hembras de primer parto en comparación con las demás etapas, en este último los subtipos que más estuvieron presentes fueron el H₁N₁ y el H₁N₂.³⁹

Hay diversos factores que pueden favorecer la aparición de problemas respiratorios dentro de las granjas porcinas como son:

- Entrada de animales: al comprar animales de reposición es un riesgo de transmisión de enfermedades que pudieran no existir en la granja.
- Mezcla de cerdos: cuando se trasladan de una zona de alojamiento a otra, a menudo reagrupan a los animales para poner a los pequeños en grupos más homogéneos, evitando que no sean desplazados por sus compañeros, y así los animales más jóvenes sanos pudieran entrar en contacto con animales más grandes enfermos.
- Tamaño de la granja: el porcentaje de cerdos enfermos crece en función al tamaño de la granja ya que en las piaras grandes, nunca se logra plenamente una inmunidad, debido a la continua adición de animales sensibles.
- Número de animales por edificio: las causas infecciosas de problemas respiratorios se difunden por aerosol y contacto directo, es decir cualquier procedimiento que ponga a los animales en íntimo contacto aumenta la probabilidad de difusión de los agentes infecciosos.
- Ventilación: el diseño del sistema de ventilación es decisivo para disminuir los problemas respiratorios en cerdos en confinamiento, ya que la falta de un flujo uniforme de aire a través de un edificio aumento la incidencia de problemas respiratorios.⁴¹

En un estudio epidemiológico realizado en Yucatán, México en granjas porcinas de ciclo completo no tecnificadas donde se buscó la presencia de cerdos seropositivos al VIP, se encontró que la frecuencia de cerdos seropositivos al VIP en las distintas etapas productivas fue del 56%. De este porcentaje, el 65% de las muestras correspondieron al serotipo H₃N₂ y pertenecían a muestras de cerdos en la etapa de engorda, específicamente en la de finalización y en menor número a hembras de pie de cría. Esto último se interpreta como una respuesta de los cerdos al entrar en contacto con el virus de campo y que coincide con la práctica del movimiento y mezclado de animales, lo que origina el contacto entre animales infectados y susceptibles. La infección en cerdos jóvenes sugiere que estos pueden permanecer infectados en forma subclínica. Esto coincide con trabajos donde al seroprevalencia es alta en esta etapa.²⁸ Estos resultados coinciden con lo observado en los animales de engorda en el sistema de traspatio en donde el porcentaje de animales positivos es mayor.²⁸

En los sueros utilizados para este estudio, no hubo antecedentes de vacunación, sin embargo, el diagnóstico positivo de la enfermedad por métodos serológicos en cerdos lactantes o destetados y en hembras con anticuerpos contra el VIP puede ser complicado. Los anticuerpos maternos persisten durante dos a cuatro meses, dependiendo de su nivel inicial. Se ha demostrado que cerdos destetados con anticuerpos maternos puede infectarse y eliminar virus. La tasa de recuperación de virus y gravedad de los signos se relaciona en forma inversa a los niveles de anticuerpos maternos. Los sueros de la fase convaleciente tendrán menos anticuerpos que los de la fase aguda debido a la inhibición de la producción de anticuerpos activos por los anticuerpos

maternos. Después de que los anticuerpos maternos desaparecen, los cerdos pueden infectarse de nuevo, eliminar virus, tener signos de enfermedad y presentar una respuesta de anticuerpos primaria típica.^{6, 31}

CONCLUSIONES

Al analizar las modas de los tres sistemas de producción y las dos etapas productivas, se indica que en este estudio la mayoría de los animales del pie de cría de las granjas de sitios múltiples y de la engorda de traspatio son positivos al VIP subtipo H₃N₂.

A partir de la comparación entre las medias de los títulos de anticuerpos de los animales de los diferentes sistemas de producción, y de las etapas productivas, se concluye que el sistema de producción no es un factor condicionante para la presencia o ausencia de anticuerpos contra el VIP y que el nivel de anticuerpos contra el VIP es independiente a la edad del animal.

En este estudio se observó mayor prevalencia de anticuerpos contra el VIP en el pie de cría del sistema de producción de sitios múltiples. Mientras que, no existieron diferencias significativas en la engorda de los tres sistemas de producción, aunque se observó una tendencia a aumentar en la del sistemas de traspatio.

LITERATURA CITADA

1. Choi, Y. Goyal, S. and Joo, H. Evaluation of transmission of swine influenza type A subtype H₁N₂ virus in seropositive pigs. American Journal Veterinary Record 2004, 65 (3): 303-306.
2. Landolt, G. Karasin, A. Philiphs, L. and Olsen, C. Comparison of the pathogenesis of two genetically different H₃N₂ Influenza A viruses in pigs. Journal of Clinical Microbiology 2003, 41 (5): 1936-1941.
3. Suarez, D. Woolcock, P. Bermudez, J. and Senne, D. Isolation from turkey breeder Hens of a reassortant H1N2 influenza virus with swine, human, and avian lineage genes. Avian Diseases 2002, 46: 111-121
4. Wesley, R. Tang, M. and Lager, K. Protection of weaned pigs by vaccination with human adenovirus 5 recombination viruses expressing the hemagglutinin and nucleoprotein of H3N2 swine influenza virus. Vaccine 2004, 22: 3427-3434.
5. Jung, T. Choi, C. Chung, H. Kim, J. Choo, W. Jung, K. and Chae, C. Herd-level seroprevalence of swine- influenza virus in Korea. Preventive Veterinary Medicine 2002, 53: 311-314.
6. Easterday, B. and Van, K. Swine Influenza. In: Straw B, Mengeling W, D'Allaire S, Taylor DJ, editors. Diseases of swine 8th ed. Iowa State University USA. 1999 p. 277- 285.
7. Song D, Lee J, Oh J, Lyoo K, Yoon K, Park Y, Park B, Isolation of H3N2 swine influenza virus in South Korea: Journal of Veterinary Diagnostic Investigate 2003, 15: 30-34.

8. Larsen, D. Karasin, A. and Olsen, C. Immunization of pigs against influenza virus infection by DNA vaccine priming followed by killed virus vaccine boosting. *Vaccine* 2001, 19: 2842-2853.
9. Waddilove, J. Preventive swine influenza in the breeding herd. *International Pig Topics* 2002, 18 (11): 17-18.
10. Thacker, B. Estrategias de vacunación contra la influenza porcina. *Acontecer Porcino* 2000, feb-mar: 18-24.
11. Trujado, M. Impacto epidemiológico del virus de influenza en porcinos. *Memorias del XL Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos (AMVEC); 2005; 28 de julio – 1° de agosto; León (Guanajuato) México: Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. 2005: 144 – 146.*
12. Ruiz, Y. Gripe Aviar, ¿Estamos cerca de una pandemia? *Quo*. 2005, 95: 50 -58.
13. Fouchier, R. Bestebroer, T. Herfst, S. Van, Der Kemp L. Rimmelzwaan, G. and Oosterhaus, D. Detection on influenza viruses from different species by PCR amplification of conserved sequences in the matrix gene. *Journal of Clinical Microbiology* 2000, 38 (11): 4096-4101.
14. Appenzeller, T. Gripe Aviaria, tras las pistas de una nueva amenaza. *National Geographic en Español*. 2005, Octubre: 2-31.
15. Tsai, C. and Pan, M. New H1N2 and H3N1 influenza viruses in Taiwanese pig herds. *The Veterinary Record* 2003, September: 408
16. Brown, L. Harris, P. McCauley, J. Alexander, D. Multiple Genetic reassortment of avian and human influenza A viruses in European pigs,

- resulting in the emergence of an H₁N₂ virus of novel genotype. *Journal of General Virology*. 1998, 79: 2497 – 2955.
17. Wueltrich, B. Chasing the fickle swine Flu. *Science* 2003, 299 (5612): 1502-1505.
 18. Carlton, J. Same old swine flu virus, but more complex disease. *Swine practitioner* 1999, January: 6-8.
 19. Direksin, K. Joo, H. and Goyal, S. An immunoperoxidase monolayer assay for the detection of antibodies against swine influenza virus. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigate* 2002, 14: 169-171
 20. Buchen, C. Influenza A virus (A/PR/8/34). Web Page generated from ICTVdB By the DELTA systems. (Serial Online) 2004 June (cited 2005 Apr 26); (2 screen). Available from: URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/46000000.htm>
 21. Jung, K. and Chae, C. Phylogenic analysis of an H1N2 influenza A virus insolated from a pig in Korea. *Archives of Virology* 2004, 149: 1415-1422
 22. Karasin, A. Landgraf, J. Swenson, S. Erikson, G. Goyal, S. Woodruf, M. Sherba, G. Anderson, G. and Olsen, C. Genetic Characterization of H1N2 influenza A viruses isolated from pigs throughout the United States. *Journal of Clinical Microbiology* 2002, 40 (3): 1073- 1079
 23. Carreón, R. Diagnóstico de influenza porcina, una necesidad actual. *Los Porcicultores y su Entorno*. 2005, 45 Mayo – Junio: 56 – 62.
 24. Jung, K. Ha, Y. Ha, S. Han, D. Kym, D. Mon, W. and Chae, C. Antiviral effect of *Sacharmicces cerevisiae* β - *gluccan* to swine influenza virus by increased production of interferon γ and nitric oxide. *Journal of Veterinary Medicine B* 2004, 51: 72-76

25. Rodríguez, J. Ramírez, H. Carreón, R. Mercado, C. Muestreo Serológico a nivel de rastro para detectar anticuerpos contra el virus de la influenza porcina. *Veterinaria México* 1996, 27 (1): 17-21.
26. Trujillo, M.E. Carreón, R. Mercado, C. y Quezada, F. Determinación de anticuerpos contra el virus de la influenza H₁N₁ y H₃N₂ en sueros porcinos. Memorias del XXXIX Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos (AMVEC); 2004; 28 de julio – 1° de agosto; Mazatlán (Sinaloa) México: Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, a.c. 2004: 181
27. Quezada, J. Castillo, H. Segaléz, C. Ramírez H. Estudio retrospectivo sobre circovirus porcino tipo 2, rubulavirus porcino e influenza porcina en cerdos del año 1972 al 2000 en México. Memorias del XLI Reunión Nacional de Investigación Pecuaria; 2005; 14 de noviembre – 18 de noviembre; Cuernavaca (Morelos) México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, 2005: 28
28. Álvarez, M. Rodríguez, J. Ciprian, A. Rodríguez, L. Ayora, G. and Segura, J. Perfil serológico del virus de la influenza porcina, *Mycoplasma Hyopneumoniae* y *Actinobacillus pleuropneumoniae*, en granjas de Yucatán, México. *Veterinaria México* 2004, 35 (4): 295-305
29. Oliveira, S. Coinfección de patógenos bacterianos y virales en porcinos: bases científicas para las observaciones de campo. Memorias del XL Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos (AMVEC); 2005; 28 de julio – 1° de agosto; León (Guanajuato) México: Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, a.c. 2005: 45-49

30. Chávez, S. Carreón, M. Mercado, C. Determinación de anticuerpos contra el virus de influenza porcina subtipo H₃N₂ en diferentes estados de la República Mexicana. Memorias del XL Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos (AMVEC); 2005; 28 de julio – 1° de agosto; León (Guanajuato) México: Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. 2005: 198.
31. Ciudad, J.M. Projectando un criadero de cerdos. Avances en Tecnologías Porcina (Serial Online) 1999 (cited 2005 Apr 26) Available from: URL:
<http://www.avancesentecnologiaporcina.com/contenidos/selejul3.htm>
32. Ramírez, G. Manejo de excretas porcinas, sistemas convencionales y alternativo. Porcicultura (serial online) 2004 (cited 2005 Apr 26): Available from: URL: <http://www.porcicultura.com/articulos.htm>
33. Haro, M.E. Alojamiento y sistemas de producción. Martínez, R.G. Carreón, R. Herradora, M. Ramírez, G. López, J.R. Mendoza, R. Pradal, P. Haro, M.E. y Herrera, M. editores. Sistemas de producción animal II cerdos, División sistema universidad abierta y educación a distancia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. México DF 2002: p. 150-151
34. Harris, D.L. Multisite Pig production. Iowa State University Press. USA 2000.
35. Doperto, J. Mendoza, R. Manejo de granjas en tres sitios y sitios múltiples. Acontecer Porcino. 2002, X (54): 20 -23.
36. Znyder, M.L. Emmise K, Jutting D, Middle L. Microfiltration hemmagglutination inhibition test for swine influenza virus (SIV) in:

Serology microfiltration techniques. Department of Agriculture Animal and Plant Health Inspection. Service Veterinary. National Service Laboratories, Iowa 1981.

37. Kuehl, R. Diseño de experimentos. 2^a ed. Thompson Learning, México DF. 2001 p. 175-225.
38. JMP. SAS/STAT. User Guide. 4th edition. SAS. Inst: Inc. Cary, NC; 2000.
39. Markowska – Daniel, I. Stankevicius, A. Seroprevalence of antibodies against swine influenza virus in pigs of different age. Bulletin of the Veterinary Institute in Polawy 2005, 40 (1): 3 – 7.
40. Aldaz, A. Enfermedades respiratorias del cerdo: algunos aspectos prácticos a considerar en el diagnóstico y control para la resolución de casos clínicos. ANAPORC (serial online) Abril 2002 (cited 2005 Marzo 15); 221; (13 Screens). Available from: URL: <http://www.avancesentecnologiaporcina.com/contenidos/resabri2.htm>
41. Christensen, G. Sorensen, V. Mousing, J. Diseases of the respiratory system In: Straw B, Mengeling W, D’Allaire S, Taylor DJ, editors. Diseases of swine 8th ed. Iowa State University USA. 1999 p. 913 – 933..
42. Organización Mundial de la Salud. Plan de preparación para la pandemia de influenza. Ginebra, Suiza: OMS, 1999