

Control y erradicación de la enfermedad de Aujeszky en un sistema múltiple de tres sitios de producción

Angélica María Vargas*
José Miguel Doporto Díaz**
María Elena Trujillo Ortega**
Humberto Ramírez Mendoza**
Rosalba Carreón Nápoles**

Abstract

The objectives of this study were: To control and eradicate Aujeszky's disease (AD) in a multiple site production system by vaccination of the breeding herd and segregated rearing and to do an epidemiological line evaluation of three site production by sentinel animals free of AD. The titre of antibodies was evaluated with the serum virus neutralization test (SVN) and the competitive g1 + enzyme-linking immunosorbent assay (ELISA). Positivity in all sites was 93.67%. The breeding herd was medicated with antibiotics in the feed to prevent the presentation of opportunistic diseases. To control the outbreak, the breeding herd was vaccinated with a killed virus vaccine with a glycoprotein g1 deletion against AD. This vaccination was repeated 21 days later, and the following year. Every pig in the breeding herd was vaccinated every three months. The second year after the outbreak, vaccination was applied to all animals in the breeding herd every four months. To control and eliminate AD, gilts and boars were placed in site 1 for a 6 month period. During the outbreak, piglets were weaned (21 days of age) and sent to a facility outside the system. When signs of AD disappeared, the piglets were weaned at 18 days of age and segregated to site 2. Methods applied to site 1 (vaccination, segregation rearing, closing the site and medication) were effective to control and eradicate AD in the system. There has not been any case of the disease in sites 2 and 3 since the program started. Furthermore, in site 1, no clinical signs of AD has been reported.

Key words: AUJESZKY, PIGS, ERADICATION.

Resumen

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. La seropositividad en los tres sitios fue del 93.67% de las muestras totales tomadas (1389) en todo el sistema por la prueba de seroneutralización SN y ELISA competitiva g1. Para la erradicación de la EA se vacunó a las hembras con una vacuna con delección g1+, siendo revacunadas a los 21 días y cada 3 meses durante el primer año posterior al brote al igual que a todo el hato, durante el segundo año se vacunó al pie de cría cada 4 meses. Por otra parte, durante el brote los lechones fueron destetados a los 21 días y llevados a otras instalaciones fuera del sistema y cuando los signos clínicos desaparecieron, los lechones fueron destetados a los 18 días y segregados al sitio 2. En la mayoría de

Recibido el 18 de octubre de 1996 y aceptado el 3 de febrero de 1997.

Este trabajo es parte de la tesis de maestría del primer autor.

* Práctica privada.

**Departamento de Producción Animal: Cerdos, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

los muestreos serológicos se obtuvo 0% de seropositividad, excepto en uno de éstos. En este sentido 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 inició 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.

Palabras claves: AUJESZKY, ERRADICACIÓN, CERDOS.

Introducción

La enfermedad de Aujeszky (EA) fue descrita por primera vez en Estados Unidos de América en 1813, en el ganado vacuno. El término 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 el agente era viral. En 1934 Sabin y Wright identificaron que el virus estaba relacionando inmunológicamente con los virus de Herpes simple y Herpes B.^{21,22}

Esta enfermedad presenta una distribución mundial, pues se encuentra en la mayoría de los países de Europa; está muy difundida en América (México, Estados Unidos de América, Cuba, Guatemala, Venezuela, Brasil y Argentina). También se ha señalado su presencia en África, Asia y Oceanía.¹²

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 León, Guanajuato.^{2,3,22}

En cerdos el primer caso informado fue en La Piedad, Michoacán, en 1969 por Martell *et al.*, quienes en 1970 realizaron el aislamiento y la identificación serológica del virus de la enfermedad de Aujeszky (VEA) de un brote en bovinos en Arcelia, Guerrero, que habían estado en contacto con cerdos importados. La presencia del VEA se confirmó mediante la prueba de anticuerpos fluorescentes. En este contexto a partir de la década de los setentas empezaron a aparecer casos de la EA en explotaciones porcinas, principalmente en el centro del país, donde existe una alta concentración de cerdos.^{5,6,22,32}

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.^{9,24,25,35}

Los signos clínicos que se presentan dependen primariamente de la "cepa" del virus, de la dosis infectante y de mayor importancia aun 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 cerdos adultos.^{21,26}

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 desganados y anoréxicos; o cerdos lactantes que presentan pelo reseco, anoréxico y en 24 horas hay ataxia y convulsiones.^{8,21}

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 éstos la morbilidad y mortalidad son del 100%; lechones de 3 a 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 notan en la pérdida embrionaria, mortalidad de fetos y por consiguiente el aumento de cerdos momificados y nacidos muertos. Además aquéllos pueden quedar como portadores sanos hasta por seis meses sin padecer la enfermedad pero sí diseminando el virus.^{23,27}

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 ocasión, 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.^{5,21,30}

La infección se efectúa por ingestión o 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:* En un lapso de 24 horas, el virus pasa a través de los axones hacia los nervios craneales, principalmente el olfatorio (I), trigémino (V), glossofaríngeo (IX) e hipogloso (XII), llegando así al puente de Varolio, médula oblonga y lóbulos olfativos. La lesión inicial en las tonsilas puede ser desde congestión hasta clara necrosis.

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

3. *Linfática*: En un lapso de tres a seis días, el virus pasa a ganglios retrofaríngeos y por el conducto torácico alcanza el torrente sanguíneo, de ahí 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.^{5,8,23,30,38}

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 periodo de incubación de 2-5 días.^{21,23}

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.^{9,13}

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 e aislamiento del virus. Asimismo, el diagnóstico rápido y certero de infecciones por VEA es fundamental para el control y erradicación de la enfermedad.^{21,29}

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: destete medicado temprano (MEW); destete medicado temprano modificado (MMEW) y tres sitios y múltiples sitios de producción (ISOWEAN).³¹

Aunado a lo anterior 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.^{19,28}

Entre las enfermedades que afectan al cerdo en México 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.^{7,25}

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 en el ámbito mundial, algunos de sus aspectos epidemiológicos aún no han sido esclarecidos.³³

Como consecuencia de lo anterior y 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, sobre todo en los cerdos más pequeños, lo cual se traduce en importantes pérdidas económicas, se establecieron los siguientes objetivos:

- 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.

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

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 alimentaria, lo cual significa 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.

Los objetivos son que 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 y hacer una valoración lineal epidemiológica de los tres sitios de producción por medio de animales centinelas libres de la EA.

Este trabajo pretende comprobar que 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, deduciendo que la prevalencia de la EA es significativamente menor con tendencia a desaparecer conforme se realiza la segregación en tres sitios de producción.

Material y métodos

La investigación se llevó a cabo en una granja porcina con 2000 vientres, localizada en el estado de Jalisco. La granja opera bajo el sistema de ISOWEAN® en tres sitios de producción aislados, entre cada sitio existen 15 kilómetros de distancia aproximadamente.

Características 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. Los lechones son destetados a los 21 días de edad como máximo.

Sitio 2

Se encuentra ocupado por los lechones destetados de 5.2 a 30 kg de peso promedio, el tiempo de permanencia es de 12 semanas. Cuenta con instalaciones tecnificadas e incluye la etapa de desarrollo.

Sitio 3

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

La granja se vio 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 se enviaron muestras (encéfalo y fetos abortados) al laboratorio de diagnóstico 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 último se realizó durante el primer año del brote para después pasar al siguiente programa, que 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 consecuencia, el virus tendría oportunidad de replicarse, 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 durante un periodo 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 le sangró y se le 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 provienen 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 durante un periodo aproximado de 12 semanas que es el tiempo de permanencia en el sitio 2, después los animales fueron 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, éstos se siguieron muestreando mensualmente hasta que fueron enviados al rastro.

9. Una vez que los sitios 2 y 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.

Para la colección y pruebas serológicas se realizó la siguiente metodología:

- a) Para la detección de anticuerpos contra el VEA se recolectaron muestras de sangre sin anticoagulante en tubos Vacutainer con el fin de 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 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 de ausencia del VEA.

La presencia de anticuerpos contra el VEA en el suero fue determinada 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 con el manual del "kit" para la detección de anticuerpos frente al antígeno gpl del VEA.*

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

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

* HerdCheck Anti ADV g1 IDEXX, Laboratories, Inc. Maine, USA.

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 %

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

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.

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

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

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, aun 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.

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 +.

Sitio 3

Se realizaron 6 muestreos después del brote con intervalos de 1 a 2 meses haciendo un total de 1226 muestras; de éstas, 179 fueron trabajadas por la técnica de SN, 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+.

Cuadro 1
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

Resultados

En los Cuadros 1 y 2 se muestran los porcentajes de seropositividad durante y después del brote, por sitio, respectivamente.

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

En el Cuadro 2 se observa que después del brote la seroprevalencia en el sitio 1 se mantiene en 100%, y en el sitio 2 se presenta una seroprevalencia del 0.84% 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 3 se desglosan las muestras obtenidas por muestreo con sus respectivos porcentajes de seropositividad en el sitio 1.

Puede observarse que antes del mes de junio 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 para 100% de seropositividad, así se mantuvo 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 examen histopatológico se encontró encefalitis no supurativa difusa,

Cuadro 2
SEROPOSITIVIDAD POR SITIO DESPUES 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 3
SEROPOSITIVIDAD POR MUESTREO DE LOS ANIMALES DEL PIE DE CRIA, MEDIANTE LA TECNICA DE SERONEUTRALIZACION (SN), ANTES Y DESPUES DEL BROTE OCURRIDO EN EL SITIO 1

Fecha muestreo	+/Total	%
1) Noviembre 92	0/10	
2) Marzo 93	0/10	
3) Mayo 93	0/10	
Total	30/30	
4) Junio 93	BROTE. Lechones con signos nerviosos y encefalitis no supurativa difusa; hembras con repeticiones, fiebre y aborto. Animales de finalización con problemas respiratorios.	
6) Agosto 93	10/10	100
7) Noviembre 93	10/10	100
8) Marzo 94	10/10	100
9) Mayo 94	14/14	100
Total	44/44	100

lo cual confirmó de manera definitiva la presencia del VEA.

En el Cuadro 4 se presentan los resultados de los sueros obtenidos por muestreo con sus respectivos porcentajes de seropositividad en el sitio 2.

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

Cuadro 5
SEROPOSITIVIDAD POR MUESTREO DE ANIMALES CENTINELAS Y DE LINEA MEDIANTE LA TECNICA DE SERONEUTRALIZACION (SN) EN EL SITIO 3

Fecha muestreos	N	%
1) Enero 94	0/69*	0
2) Febrero. 94	0/70*	0
3) Marzo 94	0/530**	0
4) Mayo 94	0/20*	0
5) Junio 94	0/20*	0
6) Septiembre 94	0/517**	0
Total	0/1226	0

* Animales centinelas

** Animales de línea

Cuadro 4
SEROPOSITIVIDAD POR MUESTREO DE ANIMALES CENTINELAS Y DE LINEA MEDIANTE LA TECNICA DE SERONEUTRALIZACION (SN) Y ELISA G1+ EN EL SITIO 2

Fecha muestreos	Seroneutralización		ELISA competitiva g1+	
	+/Total	%	+/Total	%
Octubre 8/93	0/8*	0	0/8*	0
Octubre 20/93 (C)	0/10*	0	0/10*	0
Octubre/20/93 (L)	6/6**	100	6/6**	100
Noviembre 93	0/32*	0	0/32*	0
Diciembre 93	0/59*	0	0/59*	0
Diciembre 93	0/10*	0	1/10*	10
Total	6/119	0	1/119	0.84

* Animales centinelas y de línea.

**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

C = Centinelas

L = Línea

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 g1+, 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.³⁷

En el Cuadro 5 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 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 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 g1+. Estos resultados fueron remitidos por un laboratorio aprobado por la SAGAR para apoyar la Campaña Nacional contra la Enfermedad de Aujeszky.

Discusión

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 resulta-

dos satisfactorios, como se puede observar en los resultados obtenidos en el presente trabajo.

Sitio 1

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 (36).

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 y Wierup,¹⁰ quienes mediante el uso de un programa de animales de reemplazo antes de ingresar a la granja, lograron la erradicación de la EA en una granja afectada por el VEA. Por otro lado, Sonka³⁴ 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 vio 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,^{1,14,17} por lo que se procedió a destetar a los lechones 2 veces a la semana, dicho procedimiento concuerda por lo hecho por Sonka³⁴ y Hammer¹³ en una granja con el sistema de producción en tres sitios (ISOWEAN) que se vio afectada por la EA, en la cual se disminuyó el destete a los 7 y 10 días de edad, realizándose 2 veces por semana. Asimismo, Harris *et al.*^{15,17} en un sistema de producción en tres sitios para obtener un elevado estado de salud, recomiendan que la edad de los lechones al destete debe ser de 15 a 24 días, y para obtener animales reproductores libres de 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 qué manera ingresó el VEA al sitio 1, se introdujeron animales de

reemplazo para cubrir un periodo 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 horizontal o mecánicamente, o por medio del aire o por aves, ya que estas formas de transmisión han sido comprobadas.^{4,35,38}

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 con lo hecho por Harris *et al.*,¹⁶ 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.*,¹¹ quienes lograron erradicar la enfermedad de rinitis atrófica utilizando el método de ISOWEAN, con dicho fin 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.*,^{15,17} Hammer¹³ y Geiger y Harris¹² 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 éstos y a que los animales centinelas resultaron seronegativos por las técnicas de SN y ELISA competitiva g1+, 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 circulaba.^{18,20,21,35,38}

En el muestreo realizado a animales centinelas, en el cual se notificó una muestra positiva por la técnica de ELISA competitiva g1+, se concluye que esto se pudo deber a la alta sensibilidad que tiene esta prueba, al mismo tiempo dicha muestra resultó negativa por la téc-

nica de SN, que, como ya se mencionó, es la técnica de referencia para el diagnóstico de la EA; en este sentido, la muestra se tomó como negativa al interpretar los resultados. Es importante considerar 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,¹³ 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, éstos fueron negativos a la presencia de anticuerpos contra el VEA.

Se tiene también que al no encontrar diferencia estadísticamente significativa entre las técnicas de ELISA competitiva g1+ y SN por la prueba de Ji cuadrada,³⁷ éstas pueden ser utilizadas conjuntamente para programas de erradicación de la EA, lo cual concuerda con lo descrito por Ramírez *et al.*,³¹ quienes informan una correlación del 87.58% entre dichas técnicas.

Sitio 3

La distancia que separa a los del sitios 2 del 3, es de 15 km, lo cual concuerda con lo descrito por Harris *et al.*,^{15,16} quienes para obtener animales libres del VEA, además de un elevado estado de salud en el sistema, separan 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 este estudio 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 al igual que se hizo en el sitio 2, de hecho éstos fueron los mismos animales que estuvieron en el sitio 2, quienes no presentaron en ningún momento de su estancia en el sistema anticuerpos contra el VEA hasta el momento de ser enviados al rastro, lo cual corroboró la ausencia del agente causal de la EA. Aunado a lo anterior se contó también con 1047 resultados negativos de animales de línea próximos a salir al rastro, después 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 ésta 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 g1+ utilizadas conjuntamente para el diagnóstico del

VEA, así como para estudios seroepidemiológicos, son una valiosa herramienta para el control y erradicación de la EA en un sistema múltiple de tres sitios de producción.

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, fueron una medida adecuada para detener la replicación del VEA en el sitio 1.

En relación con la segregación de animales destetados a edad temprana (18 días) en unidades aisladas por una distancia de 15 km, proporcionan la garantía de erradicar el 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 éstos 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 establecer una despoblación parcial en cualquier momento.

Literatura citada

1. Alexander, T.J.L. and Harris, D.L.: Methods of disease control. In: *Diseases of Swine*. 7th ed. Edited by: Leman, A.D., 808-836. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1992.
2. Alzina, A., Gómez, M., Rodríguez, J., Villegas, S. y Alvarez, M.: Control de la enfermedad de Aujeszky mediante el uso de vacunación g1 (-) en una granja infectada. Memorias del XXVII Congreso Nacional de la Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Cerdos. Acapulco, Gro, México. 1992. 224-225. AMVEC. Acapulco, Gro., México (1992).
3. 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).
4. Beran, G.W.: Survival of Pseudorabies virus outside the living host. First International Symposium on the Eradication of Pseudorabies (Aujeszky's) Virus. St. Paul, Minnesota. 1991. 14. *University of Minnesota, College of Veterinary Medicine*. St. Paul, Minnesota (1991).
5. 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. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1990.
6. Ciprian, G.: ISOWEAN multi-sites. Seventh Pig International Company International Seminar. Des Moines, Iowa. 1995. 152-166. *PIC*. Des Moines, Iowa (1995).
7. Coj, L.J.M.: Perfil serológico contra la enfermedad de Aujeszky en una granja porcina donde se aplica una vacuna con deleción de la glicoproteína G1. Tesis de licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1993.
8. Correa, G.P.: Pseudorabia. En: *Avances en Enfermedades del*

- Cerdo. Editado por: Morilla, A., 177-189. *Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Cerdos*, México, D.F., 1985.
9. Egger, W. y Visser, T.: Revisión de aspectos selectos de la enfermedad de Aujeszky. Memorias de la 1ra Jornada Porcina. México, D.F. 1994. 1-9. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. (1994).
 10. Engel, W. 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).
 11. 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. Proceedings of the 11th Congress of the International Pig Veterinary Society. Lausanne, Switzerland. 1990. 67. *IPVS*. Lausanne, Switzerland (1990).
 12. 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. St. Paul, Minnesota. 1991. 68. *College of Veterinary Medicine. University of Minnesota*. St. Paul, Minnesota (1991).
 13. 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 College of Veterinary Medicine. St. Paul, Minnesota. 1991. 68. *College of Veterinary Medicine. University of Minnesota*. St. Paul, Minnesota (1991).
 14. Harris, D.L.: Alternative approaches to eliminating endemic diseases and improving performance of pigs. *Vet. Rec.*, 123:422-423 (1988).
 15. Harris, D.L.: The use of ISOWEAN (sm) 3 site production to upgrade health status. Proceedings of the 11th Congress of the International Pig Veterinary Society. Lausanne, Switzerland. 1990. 374. *IPVS*. Lausanne, Switzerland (1990).
 16. Harris, D.L., Armbrrecht, P.J., Wiseman, B.S., Platt, K.B., Hill, H.T. and Anderson, L.A.: Producing Pseudorabies - free breeding stock. *Modern Vet. Pract.*, 74:52 (1993).
 17. Harris, D.L.: Application of age-segregated rearing in one and multiple site pig farms. Memorias de la 1era Jornada en Producción Porcina. México, D.F. 1994. 114-139. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. (1994).
 18. Iglesias, S.G.: Estudio comparativo de la virulencia de dos cepas del virus de la enfermedad de Aujeszky. *Vet. Méx.*, 18: 101-108 (1987).
 19. Kimman, T.G.: Control and eradication of Aujeszky's disease. Memorias del Symposium sobre Enfermedades del Cerdo con Implicaciones en el Comercio Internacional. México, D.F. 1992. 32-47. *Morilla, A. y López, A.* México, D.F. (1992).
 20. Kimman, T.G.: Immunological protection against pseudorabies virus. Aujeszky's Disease Symposium Office International des Epizooties. Bangkok, Thailand. 1994. 11-22. *Intervet*. Bangkok, Thailand (1994).
 21. 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., 312-323. *Iowa State University Press*, Ames, Iowa, 1992.
 22. Martell, D.M.A.: Consideraciones sobre la enfermedad de Aujeszky o *Pseudomona* en México. En: Avances en Enfermedades del Cerdo. Editado por: Morilla, A., Correa, P. y Stephano, H.A., 163-167. *Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, A.C.*, México, D.F., 1985.
 23. Maqueda, A.J.: Características clínicas de la enfermedad de Aujeszky. En: Avances en Enfermedades del Cerdo. Editado por: Morilla, A., Correa, P., Stephano, H.A., 207-215. *Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, A.C.*, México, D.F., 1985.
 24. Mettenler, T.C.: Molecular biology of Pseudorabies (Aujeszky's disease) virus. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.*, 14: 151-163 (1991).
 25. Oirschot van, J.T.: Induction of antibodies to glycoprotein Y in pigs exposed to different doses of mildly virulent strain of Aujeszky's disease virus. *Vet. Rec.*, 122:599-603 (1988).
 26. Oirschot van, J.T., Gielkens, A.L.J., Moormann, R.J.M. and Berns, A.J.M.: Marker vaccines virus protein - specific antibody assays and the control of Aujeszky's disease. *Vet. Microbiol.*, 23: 85-101 (1990).
 27. Oirschot van, J.T.: Why Pseudorabies virus is a candidate for eradication. First International Symposium on the Eradication of Pseudorabies (Aujeszky's) Virus. St. Paul, Minnesota. 1991. 12-14. *College of Veterinary Medicine. University of Minnesota*. St. Paul, Minnesota (1991).
 28. 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. México, D.F. 1992. 18-31. *Morilla, A. y López, A.* México, D.F. (1992).
 29. Osorio, F.A.: Diagnosis of Aujeszky's disease. Aujeszky's Disease Symposium O.I.E. Bangkok, Thailand. 1994. 33-43. *Intervet*, Bangkok, Thailand (1994).
 30. Pensaert, M., Nauwynck, H. and Smel de, 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. St. Paul, Minnesota. 1991. 23-25. *College of Veterinary Medicine. University of Minnesota*. St. Paul, Minnesota (1991).
 31. Ramírez, 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 látex en la detección de anticuerpos contra la enfermedad de Aujeszky. Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria 1995. *Vet. Méx.*, 26. Suplemento Núm. 2: 128 (1995).
 32. Rosales, O.C.: Aspectos epizootológicos de la enfermedad de Aujeszky. En: Avances en Enfermedades del Cerdo. Editado por: Morilla, A., Correa, P., Stephano, A., 225-231. *Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, A.C.*, México, D.F., 1985.
 33. Rosales, O.C.: Panorama de la enfermedad de Aujeszky en México. Memorias del Symposium sobre Enfermedades del Cerdo con Implicaciones en el Comercio Internacional. México, D.F. 1992. 7-17. *Morilla y López A.* México, D.F. (1992).
 34. Sonka, S.: PRV: Just one more challenge. *Pork*, 6:64 (1995).
 35. Taylor, D.J.: Pig Diseases. 6th ed. *St. Edmundsbury Press*, London, U.K., 1995.
 36. Thawley, D.G., Gustafson, D.P. and Beran, G.W.: Procedures for the elimination of pseudorabies virus from herds of swine. *J. Am. vet. med. Ass.*, 12: 1513-1518 (1982).
 37. Thrusfield, M.: Epidemiología Veterinaria. *Acribia*, Zaragoza, España, 1989.
 38. Wittmann, G. and Rziha, J.H.: Aujeszky's disease (Pseudorabies) in pigs. In: Herpesvirus Diseases of Cattle, Horses and Pigs. Edited by: Wittmann, G., 30-45. *Kluwer Academic Publishers*, London, U.K., 1989.