

**Determinación de Anticuerpos Séricos contra Brucelosis y
Aujeszky en Cerdos de Establecimientos del Noroeste de la
Provincia de Buenos Aires.**

Tesina del alumno

LEANDRO NAHUEL FARIÑA

Este trabajo ha sido presentado como requisito
para la obtención del título de:

INGENIERO AGRÓNOMO

Carrera: Ingeniería Agronómica

**Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales.
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires.**

Junín, 30 de Abril de 2014

Determinación de Anticuerpos Séricos contra Brucelosis y Aujeszky en Cerdos de Establecimientos del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires.

Tesina del alumno

FARIÑA LEANDRO NAHUEL

Aprobada por el Tribunal Evaluador de Tesina

.....

.....

**Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales,
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires.**

Índice

| | Página |
|---|---------------|
| Índice | 3 |
| Introducción | 4 |
| <u>Grafico nº 1: Principales Países Productores de Carne de Porcino en 2012</u> | 6 |
| <u>Brucelosis.</u> | 8 |
| <u>Enfermedad de Aujeszky.</u> | 11 |
| Objetivos Generales | 14 |
| Objetivos Específicos | 15 |
| Hipótesis | 16 |
| Materiales y Métodos | 17 |
| <u>Brucelosis.</u> | 18 |
| <u>Enfermedad de Aujeszky.</u> | 19 |
| Resultados | 20 |
| <u>Tabla nº 1: Lista de Establecimientos Muestreados.</u> | 21 |
| <u>Figura nº 1: Ubicación de las Localidades Participantes</u> | 22 |
| <u>Grafico nº 2: Participación de los Establecimientos por Partido</u> | 23 |
| <u>Tabla nº 2: Participación de los establecimientos por Partido</u> | 24 |
| <u>Grafico nº 3: Cantidad de Animales por Establecimientos</u> | 25 |
| <u>Tabla nº 3: Datos Generales</u> | 26 |
| Resultados de las Pruebas Serológicas | 27 |
| <u>Grafico nº 4: Distribución de Establecimientos en Base a la Cantidad de Madres</u> | 28 |
| <u>Grafico nº 5: Tipo de Producción</u> | 29 |
| <u>Grafico nº 6: Ciclo de Producción</u> | 30 |
| Discusión | 31 |
| <u>Grafico nº 7: Porcentaje de Animales Positivos a las Pruebas Diagnósticas de Brucelosis en los años 1990-92-96 y 2000.</u> | 35 |
| <u>Figura nº 2: Número de Establecimientos Productores Porcinos por Provincia</u> | 36 |
| <u>Figura nº 3: Número de Establecimientos Productores Porcinos en la Provincia de Buenos Aires</u> | 37 |
| <u>Medidas de Control y Bioseguridad, para Aujeszky y Brucelosis.</u> | 39 |
| Conclusión | 41 |
| <u>Anexo I: Índice de Procedimientos Operativos para el Diagnostico de Brucelosis</u> | 42 |
| <u>Anexo II: Kit para la detección de anticuerpos anti-gpl del virus de la Enfermedad de Aujeszky (ADV)</u> | 48 |
| Bibliografía | 54 |

Introducción

El mercado de carnes a nivel mundial ha presenciado importantes cambios en las últimas décadas, fundamentalmente en la última. El consumo de las tres principales carnes a nivel mundial; carne porcino, carne aviar y carne bovina se encuentra actualmente en el orden de las 238 millones de toneladas. (Puricelli, 2011).

La carne bovina fue hasta la década del 70' la carne más consumida en el mundo (43,3% seguida por la carne porcina 42,8% y por la carne aviar 13,9%). A partir de esa década la carne porcina tomó el liderazgo en el consumo mundial de carnes hasta los tiempos actuales, seguido por la carne bovina, y luego por la carne aviar. Después del año 2001, la carne aviar superó el consumo de carne bovina, pero no la de porcina, con un espectacular incremento en sólo 10 años de un 42%. (Puricelli, 2011).

El consumo mundial de carnes bovina, aviar y porcina aumenta todos los años y, en 2012, según estimaciones del Departamento de Agricultura de EE.UU. (USDA) creció 3,9 millones de toneladas, lo que representa 1,6% más que en el 2011. (TERRA NOTICIAS, 2013).

La producción mundial de carne porcina presenta un mercado creciente durante la última década. Así, en el periodo 2001-2011 la producción de carne en el mundo creció a una tasa media anual de 1.7%. Durante 2011, la producción mundial de carne porcina totalizó 101.7 millones de toneladas. (Navarrete Pérez, 2012).

El 81.2% de la producción mundial de carne de porcino se concentra en China, la Unión Europea y Estados Unidos. En el gráfico n° 1 (ANEXO I) se muestra que durante 2011 China produjo 49.5 millones de toneladas de carne de cerdo que representaron 48.7% de la producción mundial. La producción en la Unión Europea es de 22.8 millones de toneladas, que representan 22.4% y los Estados Unidos que con una producción de 10,2 millones de toneladas, representa el 10.1% de la producción. (Navarrete Pérez, 2012).

La producción Nacional al igual que la producción mundial fue variando a lo largo de los años. Argentina pasó de faenar 1.845.656 cabezas en el año 1992 a 3.433.378 cabezas en el año 2011, alcanzando una producción alrededor de 300 mil toneladas. En el 2012 la producción alcanzó las 331000 toneladas faenando una totalidad de 3.818.758 cabezas. Lo propio ocurrió también con el consumo per cápita de carne de cerdo, que por el año 1992 no alcanzaba los 6 kg. y en la actualidad se encuentra en 10.4 kg. (MAGyP, 2013).

Esto trajo aparejado también el aumento tanto de las importaciones como de las exportaciones. El año 2011, se importaron 54.973 toneladas contra las 29.678 toneladas importadas en el año 1992, el mismo año se exportaron 107 toneladas, y en 2011, casi 20 años después se exportaron 6.430 toneladas. A partir de 2011 las importaciones cayeron abruptamente. En 2013 se importaron 16 mil toneladas, manteniendo casi sin modificaciones lo exportado. (MAGyP, 2013).

El sector porcino argentino cuenta con 3.4 millones de cabezas y crece de manera anual a un ritmo del 2%. El 70% de la producción se ubica en la Pampa Húmeda.

A nivel de cantidad total de madres, nuestro país dispone de unas 450 mil, cuyo 70% se concentra en manos de pequeños y medianos productores. El 90% de ellos evidencia un rango de entre 10 y 200 vientres.

Según la visión de técnicos de INTA Marcos Juárez (Guida Daza, 2012) para los próximos 10 años, el consumo interno de carne porcina llegaría a los 14 kilos por habitante y por año, al tiempo que la producción podría crecer desde las 300 mil a las 700 mil toneladas. Se apunta, también, a que las exportaciones pasen de 5 a 70 mil toneladas.

Principales Países Productores de Carne de Porcino en 2012 Porcentaje

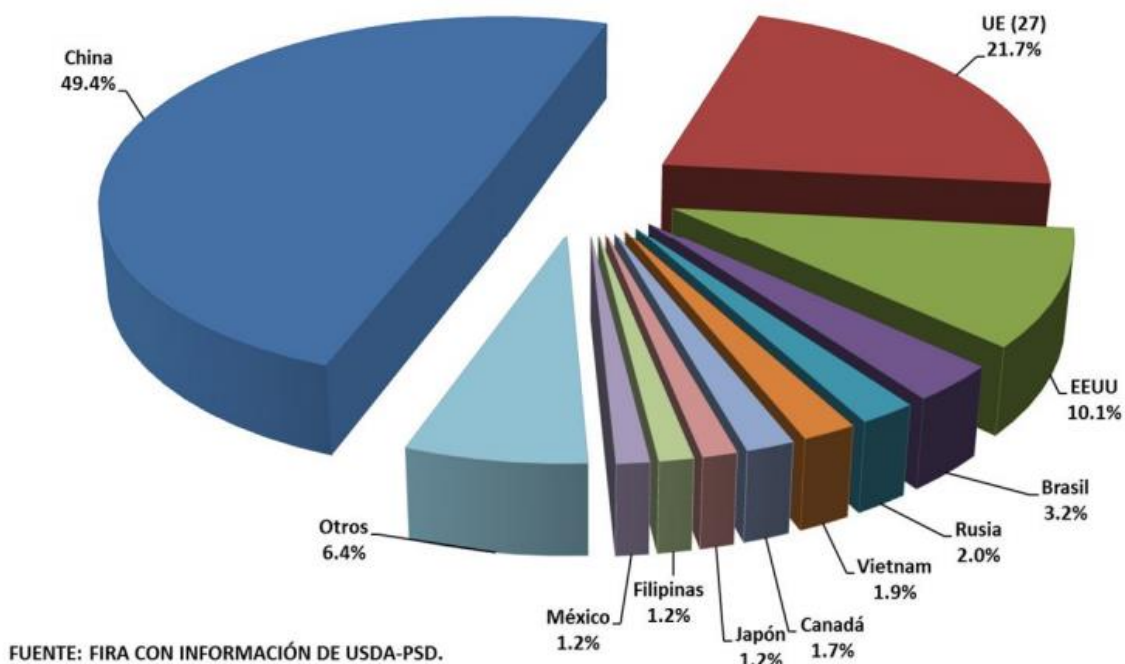


Grafico nº1

Dos son las claves sobre las cuales se debería trabajar para lograr esos objetivos: ***La generación de formas asociativas entre productores*** en busca de una mayor escala y ***La mejora de los Niveles de Eficiencia actuales***. (Guida Daza, 2012).

Hoy se logran entre 8 y 10 capones por madre y por año, mientras que se debería apuntar a terminar 16. (Guida Daza, 2012).

Si bien el sector porcino argentino es pequeño, posee condiciones naturales óptimas para crecer y satisfacer su demanda interna y los mercados demandantes. Los principales analistas internacionales del sector cárnico, sostienen que hacia el año 2020, sólo podrán competir como productores de proteína animal aquellos países capaces de autoabastecerse de granos y con reservas de agua potable suficientes. Esto hace que las miradas se posen sobre el Continente Americano y sobre sus tres grandes productores de granos: Estados Unidos, Brasil y Argentina. (García, 2007).

Para cuando esto suceda la Argentina además de aumentar su producción deberá alcanzar una mejor eficiencia productiva. Como mencionamos anteriormente uno de los principales problemas del sector porcino argentino, es la baja eficiencia de producción.

Los indicadores más usados para medir eficiencia de producción de los establecimientos productores de cerdos son (Zielinski, 2000),:

- Porcentaje de preñez.
- Porcentaje de parición.
- Cantidad de lechones paridos/ hembra/año.
- Cantidad de partos/cerda/año.
- Cantidad de lechones destetados/hembra/año.
- Cantidad de capones producidos/hembra/año.
- Cantidad de Kg. de cerdo producidos/hembra/año.
- Días no productivos/hembra/ año.

Una baja eficiencia de producción puede deberse a varios factores: el ambiente, tamaño del criadero, el tipo de instalación, el sistema de cría, la alimentación, la sanidad y la genética. (Muirhead, Alexander, Carr, 2012).

Cuando los indicadores antes mencionados nos demuestran la presencia de fallas reproductivas, una de las posibles causas es la presencia de agentes-infecto contagiosos. (Muirhead, Alexander, Carr, 2012).

Se entiende como falla reproductiva al defecto por el cual una hembra desteta una menor cantidad de lechones que lo permitido por su potencial genético. (Zielinski, 2000).

Existen enfermedades que se presentan en forma frecuente o en forma esporádica dependiendo de las características de los agentes causales y las características propias de los establecimientos en cuanto al manejo sanitario implementado. (Zielinski, 2000).

Tomando como modelo establecimientos del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires donde, los servicios se realizan por monta natural, en grupos o dirigidas, gestaciones al aire libre, pariciones en parideras a campo, o salas de maternidad, que utilizan machos de cabañas o núcleos genéticos y la reposición se realiza con cachorras propias, podemos decir que las enfermedades infecciosas que tienen mayor importancia en cuanto a su frecuencia de aparición, para este tipo de establecimientos, son: BRUCELOSIS y AUJESZY. (Zielinski, 2000).

Brucelosis.

Esta es una enfermedad muy difundida en los establecimientos de producción al aire libre con bajo o mediano nivel tecnológico. (Zielinski, 2000). En 1996 Busso y colaboradores analizaron 40 establecimientos, que reunían 3343 animales reproductores. Se analizaron 653 sueros (20%) de los cuales resultaron positivos 27, arrojando una prevalencia del 4.13%. Esta prevalencia resalta el dato de que el 27% de los Sistemas al Aire Libre son positivos. (Busso, Ambrogi, Pelliza, Dic Cola, Schneider, 1997). Brucelosis es una enfermedad muy variable entre

establecimientos, existiendo alguno de ellos con un alto número de reproductores infectados, mientras que en otros es muy bajo. (Zielinski, 2000).

La importancia de esta enfermedad radica en las pérdidas económicas generadas por fallas reproductivas en la producción de cerdos. Es zoonótica, genera una enfermedad crónica en humanos, la que en la mayoría de los casos ocurre por exposición ocupacional.

El agente causal de la infección es *Brucella suis*, un cocobacilo gram negativo e intracelular facultativo. Existen otras especies bacterianas del género *Brucella* que pueden infectar a cerdos como: *Brucella abortus* y *Brucella mellitensis*. (SAG, 2011).

Las especies de *Brucella suis* abarcan cinco biovariedades, pero la infección en cerdos es atribuible a tres biovariedades, la biovar 1, la biovar 2 y la biovar 3 de *Brucella suis*. La enfermedad causada por la biovariedad 1 y 3 son similares, mientras que la producida por la biovariedad 2 difiere en el rango de hospedantes, su distribución geográfica y su patología, ya que raramente afecta al hombre mientras que las biovariedades 1 y 3 son causantes de graves infecciones. (Zielinski, 2000).

Las biovariedades 1, 2 y 3 afectan a cerdos.

Las liebres son reservorio de la biovariedad 2.

Las biovariedades 1 y 3 afectan al hombre.

La biovariedad 4 afecta principalmente a ciervos.

La biovariedad 5 se ha aislado desde roedores en Europa.

(SAG, 2011).

En la mayoría de los casos la enfermedad entra al establecimiento por primera vez cuando se realizan ingresos de animales infectados. La adquisición de reproductores fuera de cabañas es una situación potencialmente peligrosa, aunque los animales hayan sido negativos a las pruebas realizadas previas a la compra. La enfermedad puede estar en periodo de incubación y pasar desapercibida. Ocasionalmente la enfermedad puede ingresar al establecimiento a través de vehículos infectados, calzado o mediante la provisión de alimentos. Cuando se ingresan reproductores a un establecimiento deben siempre adquirirse en cabañas o núcleos genéticos que puedan acreditar fehacientemente ser libres de brucelosis.

La infección, una vez que entra al establecimiento, se amplifica y difunde por medio de los abortos y partos normales de hembras infectadas que contaminan el ambiente, las fuentes de agua y los alimentos, ingresando a reproductores sanos por la vía digestiva. Los padrillos infectados pueden transmitirla por vía venérea.

Se sospecha su presencia en una piara debido a varios signos, entre ellos el aborto, que puede ser temprano o tardío en la gestación. En caso que se produzca muy temprano, la cerda entra en celo nuevamente presentando un ciclo irregular. Si es servida puede quedar preñada y parir animales débiles que mueren al poco tiempo, eliminando brúcelas luego de cada parto que contribuyen al mantenimiento de la infección en el establecimiento, siendo fuente de infección para animales no infectados.

En los padrillos la infección primaria produce orquitis y disminución de la capacidad fecundante del semen, siendo de transmisión venérea. (Zielinski, 2000).

En cuanto a los signos de la enfermedad se observan abscesos, lesiones inflamatorias o purulentas y focos de calcificación en testículos y órganos sexuales accesorios, especialmente epidídimo y vesícula seminal. Estas lesiones tienden a ser unilaterales. Luego del aborto la placenta puede observarse edematosa e hiperémica, y el feto puede contener fluidos hemorrágicos en el espacio peritoneal

y tejidos subcutáneos. Puede haber retención placentaria. En algunos casos se evidencia metritis.

Los nódulos y abscesos uterinos se pueden encontrar en úteros grávidos y no grávidos. Las lesiones del tipo abscedativas o purulentas pueden estar presentes en otros órganos no reproductivos, particularmente linfonódulos, bazo, hígado, riñones, cápsulas articulares, bursas tendíneas, huesos, glándula mamaria, vejiga urinaria y ocasionalmente cerebro. También se ha reportado inflamación esplénica nodular, artritis, bursitis y osteomielitis de los cuerpos vertebrales. (SAG, 2011).

Esta enfermedad es zoonótica, es decir, transmisible al hombre cuando el mismo toma contacto con las brúcelas. En el hombre puede producir inflamación en los testículos, en el epidídimo, y también puede localizarse en otros órganos con graves consecuencias para la vida del individuo. En mujeres puede provocar trastornos graves.

La Brucelosis es una de las enfermedades cuyo diagnóstico de laboratorio está muy desarrollado y tiene teniendo alta sensibilidad y especificidad. Existen pruebas sobre el suero de los animales sospechosos que detectan los anticuerpos contra *B. suis* que son significativas de infección. (Zielinski, 2000).

Se utilizara la prueba de screening Buffer Plate Antigen (BPA), y como pruebas complementarias para su confirmación se utiliza Seroaglutinación lenta con 2-MERCAPTOETANOL (2-ME) y Seroaglutinamiento en Tubo (SAT).

Enfermedad de Aujeszky.

La enfermedad de Aujeszky o Pseudorabia es la enfermedad que afecta a la reproducción con mayor difusión según relevamientos realizados por investigadores de la Universidad de Río Cuarto, la Universidad de Buenos Aires y el Relevamiento Nacional de SENASA. Los estudios epidemiológicos de la Universidad de Río Cuarto en establecimientos de la provincia de Córdoba, Santa Fe y Buenos Aires determinando que el 27% de los establecimientos al aire libre testados eran positivos a la enfermedad. Los estudios de la Universidad de

Buenos Aires determinaron que el 45% de un total de 104 establecimientos testados eran positivos, con una alta proporción de animales infectados. (Zielinski, 2000).

La Enfermedad de Aujeszky o Pseudorrabia es una enfermedad viral causada por un virus de la familia herpesviridae, subfamilia alpha-herpesviridae denominado Herpesvirus porcino tipo I (HVP-I). (Arias, Sierra, y Sánchez-Vizcaíno, 2008)

Los virus herpes hacen alusión a la facultad de estos agentes infecciosos microscópicos de ser fácilmente contagiados y transmitidos. (Cánepa, 2002). El hecho de que sea un virus Herpes, le confiere la habilidad de establecer infecciones latentes en células del tejido nervioso y sobre todo en el ganglio trigémino. Después de sufrir una infección, el virus permanece latente en el cerdo y en otras especies. El genoma viral persiste en el tejido nervioso del cerdo, hasta que se produce un desequilibrio, estrés, alteración hormonal, parto, inmunosupresión u otro proceso patológico que desencadenan la multiplicación, eliminando al exterior el virus e infectando a otros animales susceptibles. (Marzá Cardellat, 2004)

Generalmente, como en la mayoría de las enfermedades infecciosas, la entrada del virus a un establecimiento no infectado se realiza a través del ingreso de animales contaminados o enfermos. Se difunde principalmente por contacto directo entre animales, ya que la vía de eliminación más abundante son la saliva, y las secreciones óculo-nasales. También es posible la transmisión del virus por vía indirecta a través de objetos, ropa y hasta se postuló que la transmisión por el aire a distancias considerables es posible, aunque bajo circunstancias muy especiales de temperatura, humedad, siendo esta la vía menos frecuente.

Existen un solo serotipo y varias cepas con distinta patogenicidad. Algunas cepas producen signos clínicos poco perceptibles y la enfermedad pasar desapercibida. Por otra parte existen otras cepas que son muy virulentas, produciendo mortandades del 100% de lechones, abortos, o muerte embrionaria con reabsorción de embriones y vuelta al ciclo irregular, o producir momificación fetal.

La alteración de la gestación y el efecto que el virus produce sobre ella depende del estado de la misma en que se produzca la infección. Las hembras que superaron la infección pueden quedar estériles o concebir y parir normalmente, aunque son potenciales eliminadoras del virus.

Los animales mayores, cachorros de recría y engorde pueden presentar temblores musculares y algunos síntomas respiratorios, pero eventualmente superan la infección pero quedan como portadores latentes capaces de difundirla. Esto es muy importante en núcleos genéticos por las implicancias que tiene en la transmisión de la enfermedad.

La enfermedad se diagnostica a través de distintas pruebas de laboratorio. El diagnóstico clínico es poco confiable ya que la sintomatología tanto en madres como en cachorros es común con otras enfermedades. Un signo que puede llamar la atención cuando se presentan brotes agudos de la enfermedad en establecimientos sin antecedentes, es la muerte de animales silvestres (zorros) y domésticos (perros), debido a que podrían haber estado en contacto con animales muertos retirados del criadero. (Zielinski, 2000).

Para la detección de la enfermedad de Aujeszky in vivo se utilizan distintas técnicas serológicas. El HerdChek Anti-ADV gpl es un Inmuno-análisis enzimático de IDEXX para la detección de anticuerpos en suero porcino frente al antígeno gpl del virus de la Pseudorabia o enfermedad de Aujeszky. (IDEXX, 2010).

Objetivos Generales

Detectar la presencia de anticuerpos séricos contra Brucelosis y Aujeszky en cerdos de Establecimientos del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires.

Objetivos Específicos

Toma de muestras para estudios serológicos de cerdos pertenecientes a establecimientos del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires.

Detección de anticuerpos séricos contra de Brucelosis.

Detección de anticuerpos séricos contra La Enfermedad de Aujeszky.

Hipótesis

H0: Los bajos niveles de eficiencia actuales, basados en la cantidad de capones vendidos por madre por año en los establecimientos productores de cerdos del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires se encuentra asociada a la presencia de Brucelosis y/o Aujeszky.

H1: Los bajos niveles de eficiencia actuales, basados en la cantidad de capones vendidos por madre por año, en los establecimientos productores de cerdos del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires no se encuentra asociada a la presencia de Brucelosis y/o Aujeszky.

Materiales y Métodos

El muestreo se realizó en establecimientos porcinos del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires, pertenecientes a los Grupos de Cambio Rural que nuclea el INTA.

La toma de muestras fue realizada a nueve cerdas y un padriño de cada establecimiento.

Los animales fueron inmovilizados y se extrajo la sangre desde la vena cava mediante agujas espinales de 9 mm. (Aguja 18G x 3 ½) y jeringas de 5 ml.

Luego se centrifugaron las muestras y se extrajo el coagulo respectivo.

Los sueros fueron acondicionados y enviados a los laboratorios de INTA Marcos Juárez para su análisis.

Conjuntamente con la toma de muestras se relevaron algunos datos reproductivos, como: La Tasa de Parto, Número de Partos por Cerda por Año, Promedio de Nacidos Totales por Parto, Números de Lechones Nacidos Vivos por Madre por Año, Porcentaje de Nacidos Muertos, Numero de Lechones Destetados por Parto, Promedio de Lechones Destetados por Madre por Año, Promedio de Capones Vendidos por Cerda por Año y Porcentaje de Mortalidad Pre-Destete.

Los establecimientos donde se realizó la toma de muestras fueron establecimientos pertenecientes a los Grupos de Cambio Rural. Grupos que mediante una labor conjunta integrada por productores y un asesor técnico privado, profesionales del INTA.

El número de animales a sangrar surge de utilizar el software Win Episcopa (Creative Commons), un software desarrollado por la Facultad de Veterinaria, Universidad Zaragoza, utilizado para la epidemiología veterinaria cuantitativa. Adecuado para el diseño y análisis de estudios epidemiológicos.

En este software se ingresan datos de prevalencia estimada de la enfermedad en la zona, del número de animales promedio de los establecimientos y un nivel de confianza. En base a estos datos, propuestos por los veterinarios de INTA Marcos Juárez, el software arroja un número de 10 animales representativos a cada establecimiento para la realización de la toma de muestras.

Técnicas Diagnósticas.

Brucelosis.

Se utilizó la prueba de screening Buffer Plate Antigen (BPA), y las pruebas complementarias para su confirmación fueron Seroaglutinación lenta con 2-MERCAPTOETANOL (2-ME) y Seroaglutinamiento en Tubo (SAT) de Wright.

La prueba de screening Buffer Plate Antigen (BPA). Es un método diagnóstico que consiste en mezclar el antígeno con el suero problema y en base a la formación o no de grumos definidos se considera positivo o negativo respectivamente. En caso de ser positiva (presencia de grumos) se recurre a la ejecución de dos pruebas complementarias para confirmar la presencia de Brucelosis. Las pruebas complementarias son: Seroaglutinación lenta con 2-MERCAPTOETANOL (2-ME) y Seroaglutinamiento en Tubo (SAT).

Las pruebas complementarias, Seroaglutinación lenta con 2-MERCAPTOETANOL (2-ME) y Seroaglutinamiento en Tubo (SAT), se realizan de manera complementaria colocando el diluyente en 4 tubos, para cada una de las pruebas, además se colocan 4 tubos más como control positivo. Se colocan en filas de a tres en una gradilla. Para la prueba de 2-ME, el diluyente es solución salina con 0~85% de Cloruro de Sodio (NaCl) con la adición de Inmunoglobulinas (IgM) de 2-ME y para la prueba SAT el diluyente es una solución salina con 0.85% de NaCl más 0,5% de fenol. En el primer tubo de cada prueba se coloca el suero, y esta solución se diluye hasta el cuarto tubo, de igual manera para las dos pruebas. Después de una hora se produce la separación de las inmunoglobulinas y se

adiciona el antígeno. Pasadas 48 horas se realiza la lectura, pudiendo esta ser: positivo, incompleto o negativo.

Positivo (+): es aquella en el que el líquido de la mezcla suero antígeno aparece límpido traslucido y la agitación suave no rompe los grumos.

Incompleto: es aquella en la que la mezcla suero antígeno parcialmente turbia y con una suave agitación no rompe los grumos.

Negativo (-): la mezcla suero antígeno aparece turbia y una suave agitación no revela grumos.

Técnicas de laboratorio explicadas en ANEXO I.

Enfermedad de Aujeszky.

Para la detección de La Enfermedad de Aujeszky se utilizó un kit de diagnóstico Pseudorabies Virus gpl Antibody Kit IDDEX PRv/ADV gl serie 552Det.

Técnicas de laboratorio explicadas en ANEXO II.

Resultados

En la tabla número 1 se muestra la lista de los 35 Establecimientos donde se realizaron los sangrados, con el fin de determinar la presencia de Brucelosis y de Aujeszky en el Noroeste de la provincia de Buenos Aires. En la figura número 1 se muestra la distribución de establecimientos en estudio, en el mapa del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires.

En el Grafico número 2 se muestra la participación de cada Partido dentro del relevamiento. Esta participación está dada por la cantidad de establecimientos dentro de los mismos. Así Chivilcoy tiene una participación en el relevamiento del 22.86%, seguido por Rojas con un 17.14%, por detrás se encuentran Lincoln y Arrecifes con un 14.29% de participación, Pergamino con un 11.43%, Salto 8.57% y por último Colon y Junín con una participación de 5.71%.

Los sangrados fueron realizados en 35 establecimientos insertos en los ocho partidos a los que se hace referencia el grafico nº 2.

Como lo muestra la Tabla número 2 la Media de establecimientos evaluados por partido fue de 4.37. Presentaron un DS de 1.93 y su CV es 0.44.

Los establecimientos evaluados a lo largo de estos 8 partidos fueron 35 presentando una totalidad de 1038 madres. Grafico número 3.

La Media de madres entre los establecimientos fue de 29.6 y presenta un DS es de 17.05. El CV es superior a 0,5. La cantidad de hembras sangradas para este Relevamiento Serológico fue de 330, lo que representa un 31.7% del total de madres. La Media de Hembras Sangradas por establecimiento fue de 9.4.

La cantidad de padrillos sangrados fue 12, representando un 1.16% del total de animales sangrados. La Media de machos sangrados por establecimiento fue de 0.34. ver tabla número 3.

Lista de Establecimientos Muestreados.

| Establecimiento n° | Localidad | Partido |
|--------------------|-------------------|-----------|
| 1 | Arrecifes | Arrecifes |
| 2 | Arrecifes | Arrecifes |
| 3 | Arrecifes | Arrecifes |
| 4 | Arrecifes | Arrecifes |
| 5 | Arrecifes | Arrecifes |
| 6 | Chivilcoy | Chivilcoy |
| 7 | Chivilcoy | Chivilcoy |
| 8 | Chivilcoy | Chivilcoy |
| 9 | Chivilcoy | Chivilcoy |
| 10 | Chivilcoy | Chivilcoy |
| 11 | Chivilcoy | Chivilcoy |
| 12 | Chivilcoy | Chivilcoy |
| 13 | Chivilcoy | Chivilcoy |
| 14 | Arbolito | Colon |
| 15 | Arbolito | Colon |
| 16 | Laplacette, Junín | Junín |
| 17 | Laguna, Junín | Junín |
| 18 | Gral. Pinto | Lincoln |
| 19 | Gral. Pinto | Lincoln |
| 20 | Gral. Pinto | Lincoln |
| 21 | Gral. Pinto | Lincoln |
| 22 | Gral. Pinto | Lincoln |
| 23 | Alfonso | Pergamino |
| 24 | Alfonso | Pergamino |
| 25 | Alfonso | Pergamino |
| 26 | Alfonso | Pergamino |
| 27 | Los Indios | Rojas |
| 28 | Los Indios | Rojas |
| 29 | Los Indios | Rojas |
| 30 | Hunter | Rojas |
| 31 | Hunter | Rojas |
| 32 | Hunter | Rojas |
| 33 | Salto | Salto |
| 34 | Salto | Salto |
| 35 | Salto | Salto |

Tabla nº 1

Ubicación de las Localidades Participantes

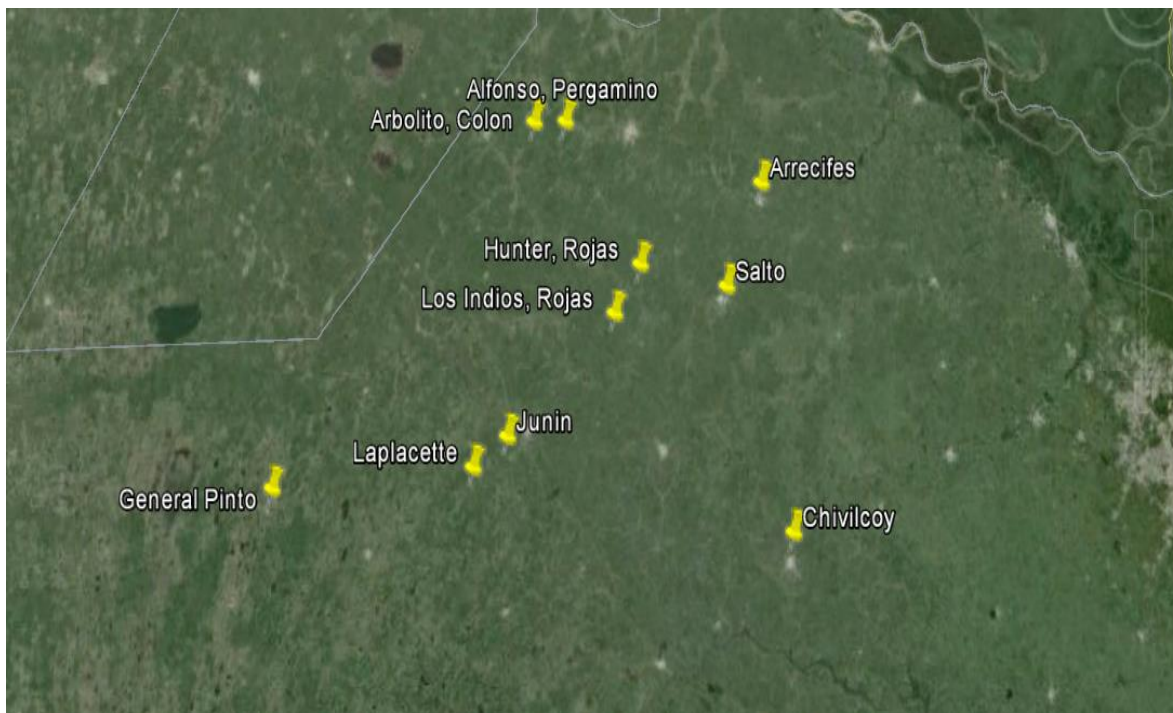


Figura nº 1

Participación de los Establecimientos por Partido

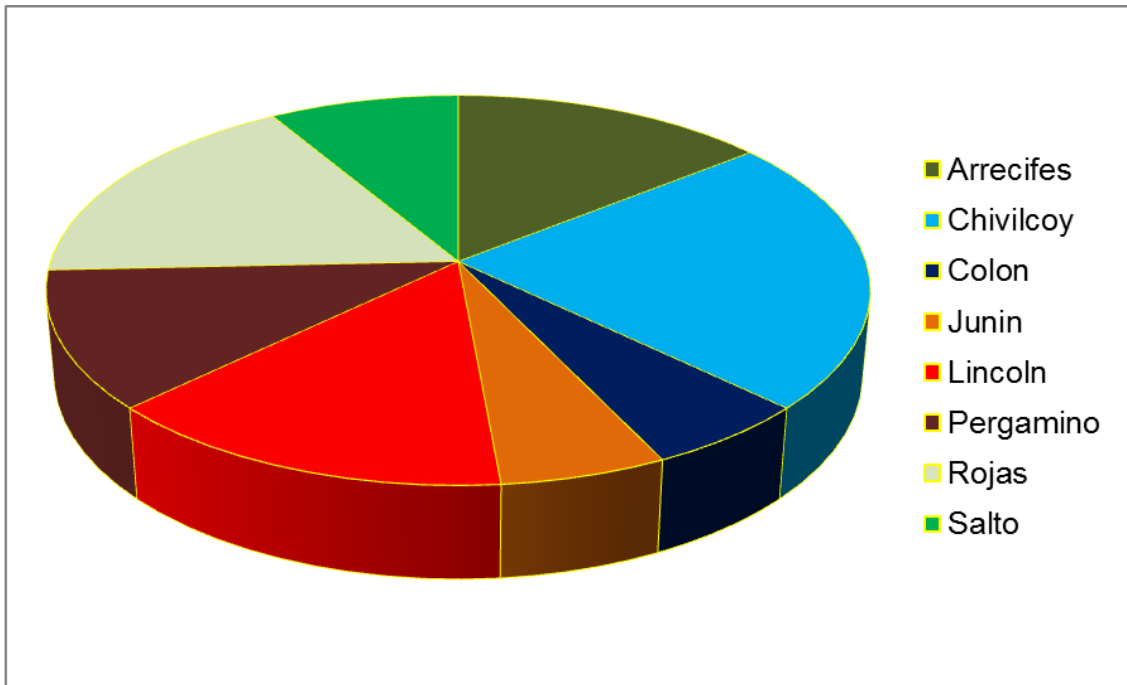


Grafico nº 2

Participación de los establecimientos por Partido

| | | |
|-----------|----------------------------|--------|
| Arrecifes | 5 | 14,29% |
| Chivilcoy | 8 | 22,86% |
| Colon | 2 | 5,71% |
| Junín | 2 | 5,71% |
| Lincoln | 5 | 14,29% |
| Pergamino | 4 | 11,43% |
| Rojas | 6 | 17,14% |
| Salto | 3 | 8,57% |
| Total | 35 | |
| | Media | 4,38 |
| | Desvió Estándar | 1,93 |
| | Coefficiente de Variación: | 0.44 |

Tabla nº 2

Cantidad de Animales por Establecimientos

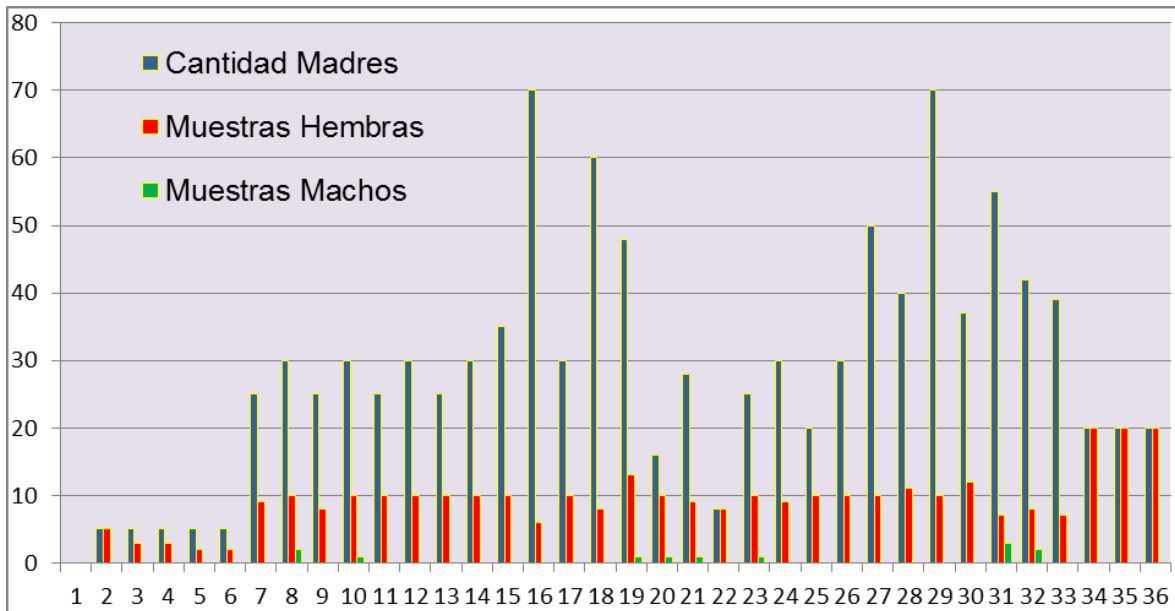


Grafico nº 3

Datos Generales

| | |
|---|--------|
| Cantidad de Establecimientos en Estudio | 35 |
| Promedio de madres por Establecimientos | 29,6 |
| Desvió Estándar entre Establecimientos | 17,07 |
| Coeficiente de Variación entre Establecimientos | 0,57 |
| Total de Animales en Estudio | 1038 |
| Total Madres Muestreadas | 330 |
| Total de Machos Muestreados | 12 |
| Hembras Muestreadas con Respecto al Total | 31,79% |
| Machos Muestreados con Respecto Total | 1,16% |
| Total de Animales Sangrados con Respecto al Total | 32,95% |
| Media de Madres Sangradas por Establecimiento | 9,42 |
| Media de Machos Sangrados por Establecimiento | 0,34 |

Tabla nº 3

La distribución de madres por criadero refleja que; el 20% de los criaderos tiene menos de 20 madres; el 57,14% de los establecimientos tiene entre 20 y 40 madres, el 14.29% tiene entre 40 y 60 madres y el 8,57% presenta una cantidad mayor a 60 madres. Los datos mencionados se reflejan en el gráfico número 4.

Los establecimientos evaluados presentan diferentes tipos de producciones. La Producción Tradicional, o al Aire Libre, (68.57%) donde las instalaciones se encuentran a campo. La Producción Confinada, (2.86%) donde las instalaciones están dentro de galpones con fosas húmedas. Y La Producción Semi-Confinada o mixta (28.57%) donde la producción se desarrolla en un estado intermedio de los dos tipos mencionados anteriormente. Ver gráfico número 5.

No todos los establecimientos se dedican a completar el ciclo de producción hasta el engorde final de los “capones” sino que algunos establecimientos terminan el ciclo de producción con la venta de “lechones”. Gráfico número 6.

Resultados de las Pruebas Serológicas

Los sueros extraídos durante el relevamiento serológico fueron analizados en INTA Marcos Juárez. Y posteriormente remitidos los resultados.

Estos sueros fueron evaluados para Brucelosis a través de la técnica BPA (Buffer Plate Antigen).

El resultado del total de los sueros analizados fue negativo. No se evidenció presencia de grumos definidos.

Para el caso de Aujeszky se utilizó el Kit (ADV) para su detección. El total de muestras evaluadas fue Negativa. La inhibición del antígeno fue menor al 30% para todos los casos.

Distribución de Establecimientos en Base a la Cantidad de Madres

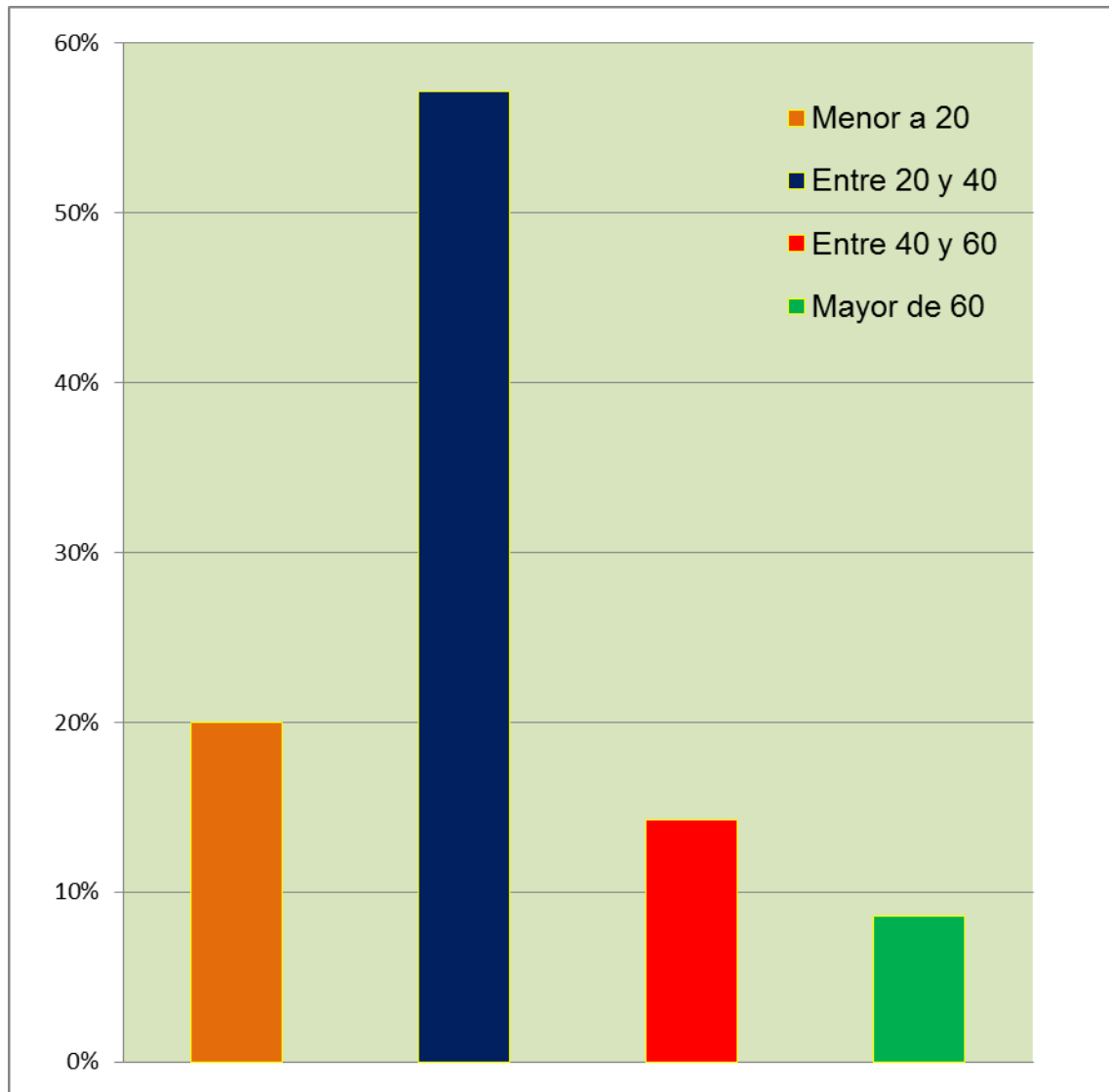


Grafico nº 4

Tipo de Producción
Valores Porcentuales

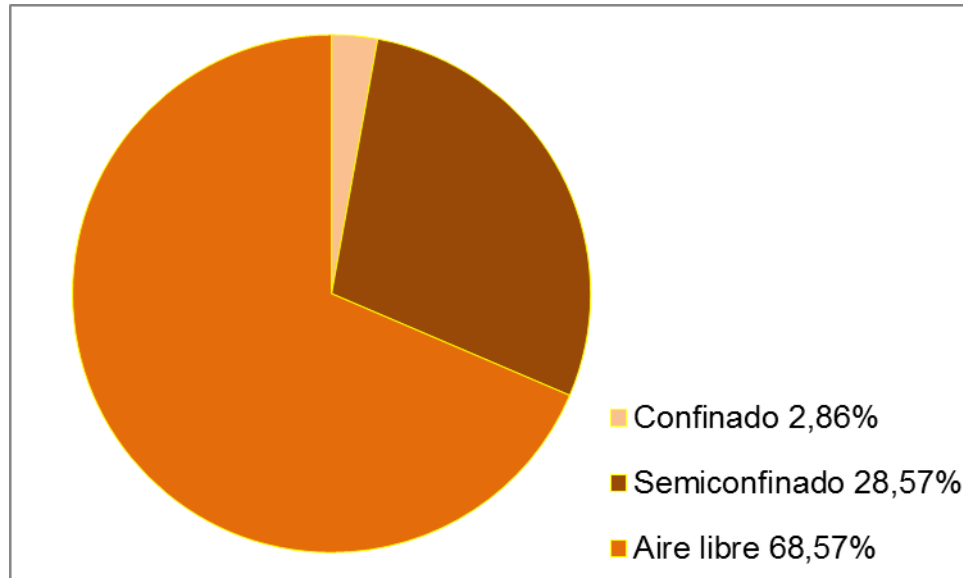


Grafico nº 5

Ciclo de Producción Valores Porcentuales

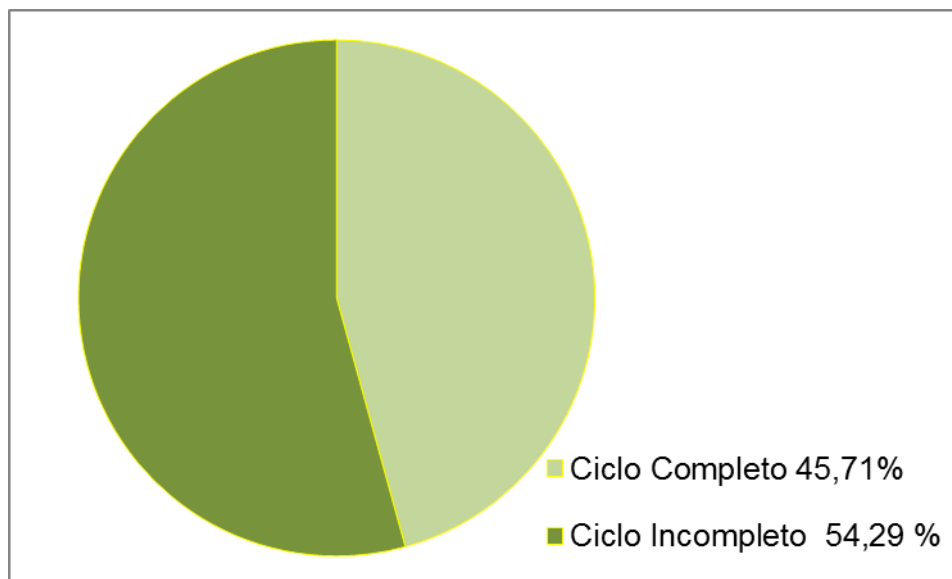


Grafico nº 6

Discusión

Como mencionamos en los resultados, los análisis realizados durante este trabajo fueron negativos para la totalidad de los sueros evaluados tanto para Aujeszky como para Brucelosis.

Los resultados obtenidos para la enfermedad de Aujeszky fueron comparados con dos trabajos, el primero fue realizado por SENASA, en el año 2010, donde se estimó la prevalencia de la Enfermedad de Aujeszky a nivel nacional. El estudio se realizó por regiones y por categorías. En este se relevaron en promedio 130 establecimientos por región y se sangraron 13 animales por establecimiento, donde 8 correspondieron a reproductores y 5 a cerdos en terminación. La prevalencia total resultó ser del 19.1%, (192 sueros positivos de 1003 sueros totales). Los muestreos mostraron heterogeneidad entre las regiones evaluadas a lo largo del país y la prevalencia fue mayor en los establecimientos con un menor número de madres. (SENASA, 2011).

El segundo trabajo fue realizado por el Departamento de Sanidad Animal INTA, Estación Experimental Agropecuaria, Marcos Juárez, Agencia de Extensión Rural, Laboulaye, en 2011, donde se analizaron 27 establecimientos en dos departamentos de la Provincia de Córdoba, uno con mayor concentración de cerdos, Marcos Juárez y otro de menor concentración, Departamento de Roque Sáenz Peña. Los resultados de 389 sueros analizados para la enfermedad de Aujeszky y para Brucelosis mostraron una prevalencia del 9% para ambas en el departamento de Marcos Juárez y una prevalencia del 0% para ambas enfermedades en el departamento de Roque Sáenz Peña. (Piscitelli, Bessone, Margineda, Salafia, 2011).

Los resultados del primer trabajo, realizado por SENASA en 2010, a nivel nacional y los resultados del segundo trabajo realizado por el Departamento de Sanidad Animal de INTA en 2011, para la localidad de Marcos Juárez, difieren de los resultados obtenidos en el presente trabajo, el primer trabajo muestra una prevalencia para la enfermedad de Aujeszky del 19.1% y el segundo trabajo

muestra una prevalencia para la misma enfermedad del 9% para el departamento de Marcos Juárez. Los resultados del presente relevamiento se corresponden más con los datos obtenidos en el segundo trabajo para la enfermedad de Aujeszky para el departamento de Roque Sáenz Peña, donde la totalidad de los sueros analizados fue negativa.

Los resultados de los análisis de Brucelosis fueron también negativos para la totalidad de los sueros.

Estos resultados difieren con respecto a diferentes trabajos. En el año 1990 Cané y colaboradores realizaron análisis sobre la prevalencia de esta enfermedad, obteniendo como resultado que el 36% de los cerdos se encontraba infectado por la bacteria *Brucela suis*. En el año 1992 Arestegui y colaboradores, de la Universidad Nacional de Río Cuarto, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Departamento de Patología Animal, obtuvieron valores de prevalencia del 5%. En 1996 Busso y colaboradores analizaron 40 establecimientos, que reunían 3343 animales reproductores. A lo largo de este trabajo se analizaron 653 sueros de los cuales resultaron positivos 27, arrojando una prevalencia del 4.13%. Busso y colaboradores afirman que si bien esta prevalencia (4,13%) resalta el dato de que el 27% de los Sistemas al Aire Libre son positivos, (que poseen uno o más animales positivos) podemos presumir que con la aplicación de las medidas de control adecuadas e inmediatas podríamos pensar en la erradicación de la enfermedad. (Busso, Ambrogi, Pelliza, Dic Cola, Schneider, 1997).

En el año 2000 Grimoldi y colaboradores, de la Universidad de Buenos Aires, Facultad de ciencias veterinarias, Área de Enfermedades Infecciosas, relevaron 33 partidos o departamentos correspondientes a las provincias de Buenos Aires, Córdoba, La Pampa y Santa Fé. Se procesaron 1132 sueros de los cuales resultaron positivos 42, la prevalencia fue del 3.7%. Grimoldi y colaboradores destacan que la tendencia a la disminución de la prevalencia destaca la aplicación de las medidas de control adecuadas, propuestas por el Programa Nacional de Erradicación de la Brucelosis Porcina a partir de 1993. Afirmando las presunciones

de Busso y colaboradores. (Grimoldi, Guida, Barboni de Stella, Picos, Moras, 2000)

Vale la pena mencionar que también a partir del año 1993 se encuentra vigente la Resolución: 1269 del SENASA, que pone en marcha el Programa Nacional de Control y Erradicación de Brucelosis Bovina, (*Brucela abortus*) no incorporando en esta a otras especies animales. Esto es importante ya que muchas veces se encuentran en convivencia cerdos con otras especies, en especial con bovinos o con subproductos de los mismos dando lugar a cuadros de abortos en cerdos causados no solo por *Brucela suis* sino también por *Brucela abortus*. (Busso, Ambrogi, Pelliza, Dic Cola, Schneider, 1997). Estos trabajos reflejan que existe una disminución en el porcentaje de animales infectados a lo largo de los años. Ver gráfico número 7.

La toma de muestras fue realizada en el Noroeste de la provincia de Buenos Aires, y como dato podemos agregar que al año 2013 la distribución del stock Nacional por provincia, muestra una marcada concentración en la de la Pampa Húmeda, donde Buenos Aires posee el 26,77%, siendo la provincia con la mayor cantidad de establecimientos productores de cerdos, seguido por Córdoba con el 24,45%, Santa Fe el 20,42%. El resto del país posee el 29% del stock destacándose por su importancia Salta, Chaco, Entre Ríos, Formosa, La Pampa, Santiago del Estero y San Luis. (Brunori, 2013). Figura número 2.

Dentro de la Provincia de Buenos Aires el partido con la mayor cantidad de establecimientos es Roque Pérez con stock de 71000 cabezas, por detrás se encuentran Salto, San Andrés de Giles y Saladillo con alrededor de 45000 cabezas porcinas. Esto refleja que en el noroeste de la provincia se encuentra la mayor proporción de la existencia porcina de la Provincia. (Iglesias, Ghezan, 2011). Figura número 3.

El CV de la cantidad de madres por establecimiento es mayor a 0.5, lo que nos indica que la Media de 29,6 no es representativa de la cantidad de madres de los 35 establecimientos en estudio. Este dato solo es tenido en cuenta para la

caracterización descriptiva de los establecimientos y no hace a los objetivos del análisis ya que no se ponderan variables con respecto a esta media.

Es importante resaltar que durante la toma de muestras la cantidad de animales en estudio arrojó una media de 9.76 (9.42, hembras + 0.34, machos). Este valor no dista del establecido por el Software Win Episcopo (Creative Commons), el cual estableció que el número de animales a Sangrar era de 10 madres y un padrillo por establecimiento.

El número de padrillos evaluados fue bajo, esto responde a que la mayoría de los establecimientos no contaba con instalaciones mínimas necesarias para sangrar de manera segura los animales, que ante los intentos de sangrado presentaron baja docilidad de manejo.

Los establecimientos en estudio mostraron un tipo de producción preferentemente al aire libre, con un 68.57%, seguidos por sistemas mixtos con 28.57% y las producciones confinadas con un 2.86%. Estos valores varían con respecto a los valores a nivel nacional, ya que estos muestran que un 39% se encuentra bajo producciones totalmente confinadas, y el 61% restante bajo producciones totalmente a campo o con alguna de las etapas en confinamiento, representando a los sistemas mixtos. (Brunori, 2013)

En cuanto a los indicadores productivos relevados durante el muestreo, se analizó la cantidad de capones vendidos por madre productiva por año de algunos establecimientos al aire libre. El promedio de este indicador fue de 10,5 capones.

Este valor no varía con respecto al promedio nacional donde el valor del mismo indicador se encuentra entre 10 y 14 capones, aumentando a 16 - 18 para establecimientos con algunas etapas en confinamiento y a 20 animales para todo el ciclo en confinamiento. (Brunori, 2013).

Porcentaje de Animales Positivos a las Pruebas Diagnosticas de Brucelosis en los años 1990-92-96 y 2000.

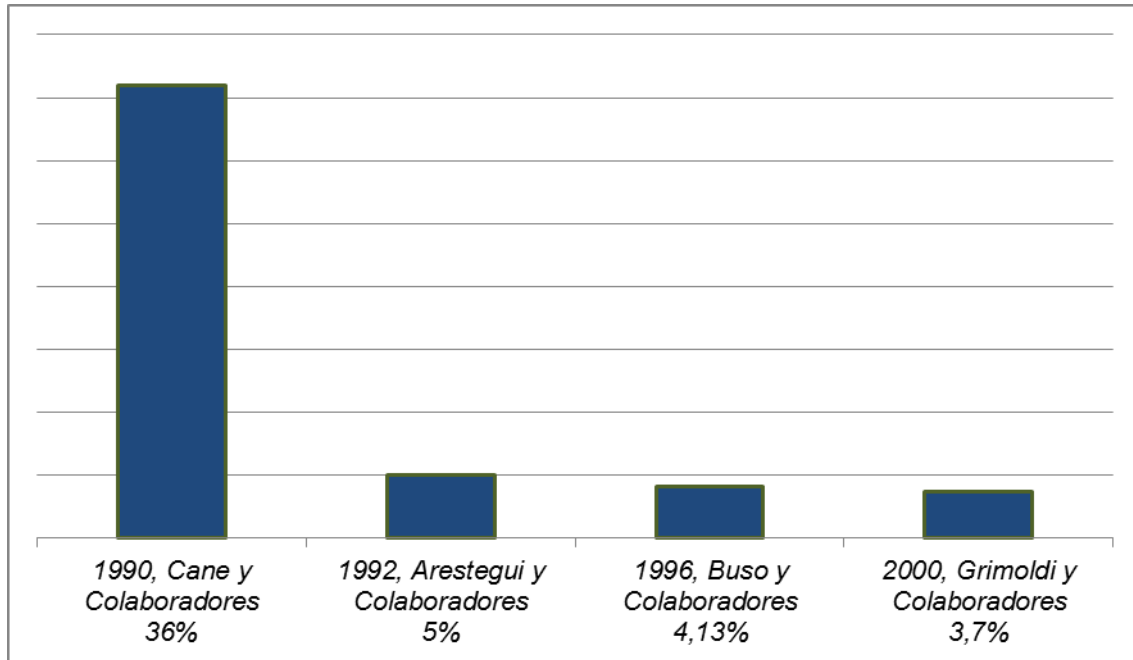


Grafico nº 7

Número de Establecimientos Productores Porcinos por Provincia

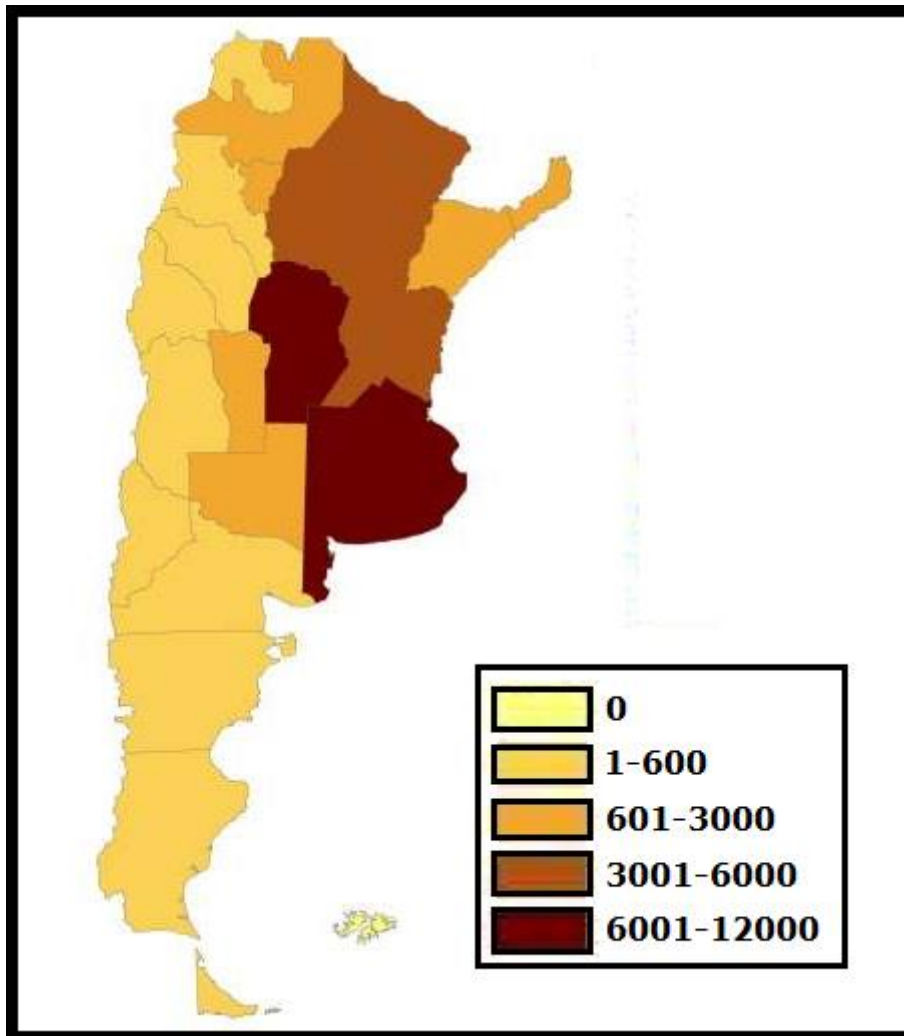


Figura nº 2

(Iglesias, Ghezan, 2011)

Número de Establecimientos Productores Porcinos en la Provincia de Buenos Aires

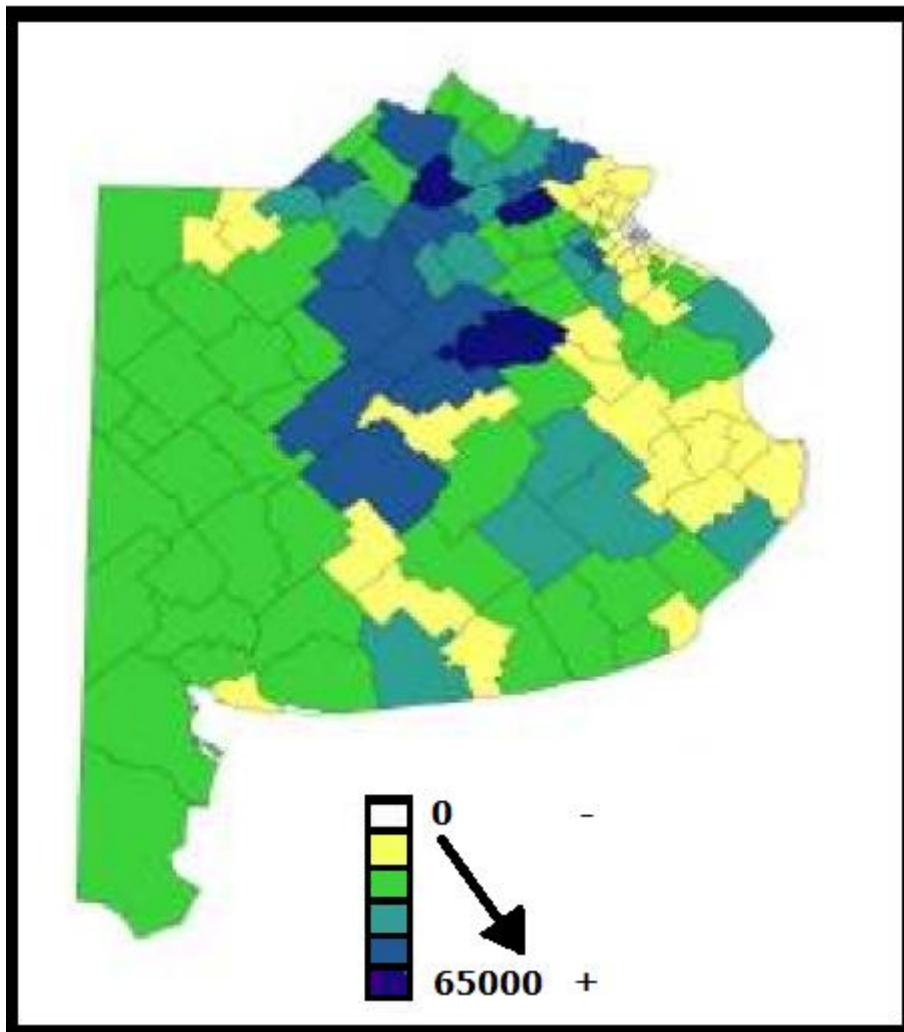


Figura nº 3

(Iglesias, Ghezan, 2011)

Comunicaciones personales con asesores de distintos Grupos de Cambio Rural, (Martin Romera de Lincoln, Jorge Simón de Pergamino y Juan Carlos Lisa de Rojas), asumen que la baja eficiencia de producción se deben a varios factores , entre ellos problemas de manejo, alimentación y/o instalaciones.

A nivel productor, hoy existe una visión más integrada de la Producción Porcina, donde el cerdo dejó de ser una producción secundaria, o terciaria para pasar a ser una **“Empresa tecnificadas de mayor eficiencia productiva”**. Así el **ingreso de tecnología** a los criaderos, el **aumento de la cantidad de animales en confinamiento**, el remplazo de reproductores por animales seleccionados genéticamente han mejorado las condiciones sanitarias y productivas de los establecimientos.

Por otro lado, la capacitación de productores, ha motivado la aplicación de técnicas sanitarias como son la **eliminación de animales seropositivos, el uso de cuarentena y el sangrado a los animales que ingresan al criadero**. También el uso de la **Inseminación Artificial**, cada vez más difundida, juega un rol importante en el control de estas enfermedades.

Como ya lo mencionamos el **Programa Nacional de Control y Erradicación de Brucelosis Bovina** que ya mencionamos, y aunque no incluya otras especies es también responsable de la disminución del inoculo infectante ya que *Brucela abortus* es capaz de infectar a los cerdos.

Sin duda los **Grupos de Cambio Rural**, a través del asesoramiento y la capacitación de productores, son responsables de este cambio.

Zielinski recomienda las siguientes Medidas de Control y de Bioseguridad, para Aujeszky y Brucelosis.

Para la enfermedad de Aujeszky:

- La eliminación de los casos positivos, de manera que el porcentaje de animales infectados en el establecimiento baja en forma paulatina.

- Impedir a entrada de animales positivos, para lo cual toda reposición de reproductores debe realizarse con sumo cuidado.
- Adquirir los núcleos genéticos bajo los programas de control y erradicación, sometidos a una cuarentena en el establecimiento de destino, con chequeo serológico incluido.
- Impedir la entrada de animales silvestres o domésticos que puedan provenir de otros establecimientos,
- Evitar el ingreso de visitantes a las áreas de producción y de vehículos.

Para Brucelosis:

- No existen antibióticos capaces de eliminar la infección en forma eficiente, ni vacunas para prevenirla. Por tanto el único método para liberar un establecimiento de la infección es la **eliminación de los animales positivos** a las pruebas diagnósticas.
- De acuerdo a la prevalencia de la Infección. La eliminación convendrá hacerla gradualmente si la prevalencia es baja, reponiendo el stock con animales procedentes de establecimientos libres. En casos de alta prevalencia podrá despoblarse el establecimiento, desinfectarse las instalaciones, dejar un descanso como mínimo de 60 días sin cerdos y luego de este lapso repoblar con reproductores que provengan de cabañas o núcleos genéticos con certificación de libres.
- También puede recomendarse, como alternativa, antes de ingresar animales de cabañas, repoblar con animales centinelas por un tiempo.
- prevenir la entrada de la enfermedad en establecimientos libres para lo cual deben adoptarse normas de bioseguridad.

- Sangrado previo al ingreso de nuevos animales al establecimiento y su cuarentena. (Zielinski, 2000).
- implementar un programa de control de rutina en el establecimiento de cachorras de reposición con dos sangrados previos al servicio) y machos sangrados mensual por la importancia como enfermedad venérea.

SENASA, establece a través de las Resoluciones 510/96 del 26 de Agosto de 1996, y la resolución resol 474/2009 la implementación del Programa de Control y Erradicación de la Enfermedad de Aujeszky en Argentina, estableciendo las pautas para su ejecución.

En este momento, los establecimientos que comercialicen reproductores deben ser negativos a brucelosis como lo establece la resolución 63/2013 y a la enfermedad de Aujeszky como lo establece la resolución 474/2009, ambas de SENASA.

Conclusión

La totalidad de las muestras evaluadas fueron negativas a la presencia de anticuerpos contra Brucelosis y Aujeszky, por lo que las enfermedades están ausentes o poseen baja prevalencia en los establecimientos estudiados.

Anexo I: Índice de Procedimientos Operativos para el Diagnóstico de Brucelosis.

A continuación se detallan una serie de procedimientos operativos para el diagnóstico de la brucelosis porcina por métodos serológicos.

Ingreso de muestras al laboratorio:

El laboratorio cuenta con una sala de recepción de muestras (sucias o de campo) fuera del área de trabajo, donde son recibidas y controladas

Registro de entrada de muestras:

Las muestras que ingresan son registradas en un libro foliado Registro de entrada de muestras al laboratorio donde queda asentada la información requerida, la fecha, el número de entrada, número de protocolo de brucelosis, ubicación del establecimiento, categoría, cantidad de muestras remitidas, laboratorio de destino, diagnóstico solicitado, responsable técnico, productor y fecha del informe final.

Todas las muestras que requieren un diagnóstico oficializados por el laboratorio de la red deben ingresar provistos de la planilla de remisión de muestras con la información completa de los datos del remitente y clara identificación de los animales.

Procedimientos en el laboratorio:

Una vez ingresada la muestra de sangre o suero al laboratorio se procede a controlar la identificación individual de los tubos. Si fuera necesario se centrifugan a 1500-1800 rpm para la obtención de un suero claro, si lo remitido fuera suero sólo se controla la ausencia de hemólisis y el estado de conservación.

Pruebas Serológicas:

Buffer Plate Antigen (BPA):

Materiales:

Aglutinoscopio.

Heladera de 4° a 6° C.

Freezer de 20° C.

Centrífuga de mesa.

Reloj de laboratorio.

Agitador orbital.

Micropipetas monocanal.

Micropipetas multicanal.

Reactivos:

EL antígeno de Buffer Plate Antigen (BPA) utilizado es de uso comercial aprobado por el SENASA.

Procedimiento:

Se acondiciona el antígeno a la temperatura ambiente,

Se controla la temperatura del laboratorio,

Las muestras de suero y/o sangre con suero se llevan a temperatura ambiente. Aquellos sueros que estuvieran congelados se procede a descongelar y mezclar bien utilizando vortex o invirtiendo el tubo varias veces.

El antígenos es homogeneizado a través de un agitador orbital marca Rondina RGM 82, a bajas revoluciones, durante 15 - 20, minutos, previo a la ejecución de la prueba.

Ejecución de la prueba:

Se coloca la placa sobre el aglutinoscopio limpia, desengrasada y seca.

Se trabaja con no más de 30 muestras de suero por tanda.

Con micro pipeta automática en posición de 450 se apoya sobre la placa de vidrio y depositan 0,08 ml (80µl) de suero utilizando un tip por cada suero.

Mediante otra pipeta automática multicanal o monocanal, se deposita una gota de antígeno 0.03 ml (30µl) cercano al suero.

Con mezcladores de acrílico o metálicos se procede a mezclar bien el suero con el antígeno abarcando una superficie circular de 3 cm de diámetro.

Se retira la placa de vidrio y se imprimen movimientos en forma rotativa hasta homogeneizar la mezcla.

Se coloca la placa sobre el aglutinoscopio y se tapa, permaneciendo la luz apagada.

Se efectúa una nueva rotación, pasados 5 minutos.

A los 8 minutos, rotando de nuevo la placa y con la luz encendida, se procede a la lectura.

Lectura:

Las reacciones se clasifican en:

Positivas: cuando se forman grumos, aun siendo finos (no confundir con artefactos producidos por impurezas, hemólisis, etc.)

Estas muestras deben someterse a las prueba complementarias de SE Seroaglutinamiento en Tubo (SAT) y 2 Mercaptoetanol o ELISA.

Negativas: cuando la mezcla suero-antígeno es de turbidez homogénea y sin grumos. Estas muestras se informan como negativas y no se realizan las pruebas complementarias.

Pruebas SE Seroaglutinamiento en Tubo (SAT) y 2-MERCAPTOETANOL (2-ME)

Materiales:

Heladera de 4° a 6°C

Freezer de -20°C

Centrifuga de mesa

Reloj de laboratorio

Agitador de orbital

Micropipetas monocanal

Micropipetas multicanal

Gradillas

Tubos de 13 x 100 mm

Reactivos:

Antígeno de Wright Comercial

Fenol

Cl Na (Cloruro de Sodio)

2-MERCAPTOETANOL -ICN-

Procedimientos:

Método de dilución decimal, realizada en paralelo.

En las gradillas se identifican dos filas más de tubos por suero correspondiendo la primera a SAT y la otra a 2 ME, se colocan 4 tubos por cada suero a titular por técnica, incluyendo una fila control positivo. La identificación del suero se hace en el primer tubo de cada fila de la gradilla.

Diluyente:

Diluyente para SAT: solución salina con 0.85% de NaCl más 0,5% de fenol

Diluyente para 2-ME: solución salina con 0~85% de NaCl con la adición de IgM de 2-ME

Antígeno

Dilución: 1:50 en solución salina con 0.85% de Na Cl

Ejecución de la prueba:

Diluciones de los sueros

SAT: se colocan 1,84 ml de solución salina fenolada en la primera hilera y 160 ml de suero.

En los restantes tubos se coloca 1 ml de solución fenolada. Con una pipeta automática de 1 ml se mezcla 3 veces el suero diluido en el primer tubo, se pasa 1 ml al segundo tubo, se mezcla 3 veces y se pasa 1 ml al tercer tubo, y así sucesivamente hasta la última dilución. El último ml se descarta. En cada fila queda 1 ml de suero diluido: 1:12,5 1:50;... hasta 1:100 en el tubo nº 4 de cada fila.

Prueba 2-ME: se procede de la misma forma que para el SAT pero utilizando el diluyente que contiene 2-ME.

Adición del antígeno:

Después de una hora a temperatura de laboratorio, tiempo necesario para la desnaturalización de las IgM por el 2-ME, se agrega 1 ml de antígeno diluido. De esta manera en cada tubo quedan 2 ml de volumen final. Las diluciones finales de los sueros corresponden a 1:25; 1:50; hasta 1:200, mientras que la dilución final del antígeno es de 1:100.

Incubación:

Los tubos se agitan y se incuban a 37°C durante 48 horas.

Las gradillas se envuelven con un film para evitar la evaporación de los reactivos.

Lectura:

Luego de 48 horas de incubación se realiza la lectura simultánea de SAT y 2-:ME.

La lectura se hace contra un fondo negro opaco iluminado con una fuente de luz incidente a los tubos y los atraviesa.

El grado de aglutinación en cada una de las distintas diluciones se clasifica como:

Positivo (+): es aquella en el que el líquido de la mezcla suero antígeno aparece límpido traslucido y la agitación suave no rompe los grumos.

Incompleto: es aquella en la que la mezcla suero antígeno parcialmente turbia y con una suave agitación no rompe los grumos.

Negativo (-): la mezcla suero antígeno aparece turbia y una suave agitación no revela grumos.

Interpretación

El título de aglutinación del suero se da por la dilución del último tubo en el que se presenta una disminución de la turbidez evidente manteniéndose los grumos firmes a pesar de una agitación leve.

Anexo II: Kit para la detección de anticuerpos anti-gpl del virus de la Enfermedad de Aujeszky (ADV)

Nombre y uso propuesto

HerdChek* Anti-ADV gpl es un Inmuno-análisis enzimático de IDEXX para la detección de anticuerpos en suero porcino frente al antígeno gpl del virus de la Pseudorabia o enfermedad de Aujeszky (AOV). La presencia de anticuerpos frente a gpl indica el contacto con cepas de campo de ADV y/o vacunas que contienen el antígeno gpl. En los Estados Unidos, el uso del HerdChek Anti ADV está propuesto para su aplicación en el manejo de la piara y la erradicación de la enfermedad de Aujeszky. Cuando se usa con vacunas de ADV gpl negativas, por ejemplo Intervet-Schering Plough Animal Health, y cuando se lleva a cabo en laboratorios autorizados de los E.E.U.U. es un análisis oficial diferencial de la enfermedad de Aujeszky aprobado en los programas federales de erradicación de esta enfermedad.

Información general:

Tradicionalmente las estrategias usadas para proteger a los cerdos de los efectos de la Infección por la enfermedad de Aujeszky han incluido la administración de vacunas convencionales y de Ingeniería genética, Los procedimientos serológicos estándar usados para valorar la exposición a ADV después de una vacunación, son de valor limitado ya que no pueden distinguir los cerdos Infeccionados de forma natural de los cerdos vacunados.

Se han desarrollado vacunas ADV seguras y eficaces que permiten dicha diferenciación serológica. Las cepas vacúnales gpl-negativas no contienen gpl, una glicoproteína vírica aparentemente no esencial presente en todas las cepas virulentas de campo de ADV conocidas.

De esta manera la técnica HerdChek Anti-ADV gpl, siendo específica para anticuerpos frente a gpl, Ignora los títulos de anticuerpos en animales vacunados con vacunas gpl-negativas pero detecta los anti-gpl de animales Infeccionados con

cepas de campo o vacunados con cepas que contienen el antígeno gpl. La técnica utiliza anticuerpos monoclonales que son específicos para gpl. Antes de vacunar a los cerdos con vacunas gpl-negativas, se pueden analizar usando el ensayo HerdChek Anti-PRVgB (anticuerpos totales) para determinar el estado Inmunitario. Posteriormente a la vacunación los cerdos se deberían analizar rutinariamente al menos dos veces al año utilizando el ensayo HerdChek Anti-ADV gpl para comprobar si ha habido exposición a cepas de campo.

Descripciones y principios:

El ensayo HerdChek Anti. ADV gpl se lleva a cabo en un micropocillo adsorbido con antígeno ADV usando dilución de suero en base 2 (1:2). Durante la primera Incubación los anticuerpos anti-ADV presentes en el suero Incluyendo aquellos producidos frente a gpl reaccionan con el antígeno en la placa. Después de un estadio de lavado se añade el conjugado de anticuerpos monoclonales anti-gpl al micropocillo donde puede unirse a cualquier antígeno vinco gpl durante una segunda Incubación. Si no hay anticuerpos anti-gpl en el suero, el antígeno gpl no ligado está disponible para los anticuerpos anti-gpl del conjugado. Por el contrario, si hay anticuerpos anti-gpl en el suero, los anticuerpos monoclonales conjugados con el enzima no pueden reaccionar con el antígeno. Después de este periodo de Incubación el conjugado que no ha reaccionado se elimina por lavado y se añade una solución sustrato/cromógena. En presencia del enzima, el sustrato se convierte en un producto que reacciona con el cromógeno generando un color azul. La absorbancia se mide usando un espectrofotómetro a 620-650 nm/A (650). Los resultados se calculan sustrayendo la A(650) de la muestra de la del control negativo y dividiendo dicha diferencia por la A(650) del control negativo. Este cociente se multiplica por 100 para expresar el porcentaje de Inhibición (ver "Cálculos"). La cantidad de anticuerpos frente a gpl es Inversamente proporcional a la A(650) y directamente proporcional a la inhibición. La presencia de anticuerpos anti-ADV, Incluyendo anti-gpl, indican una exposición previa a una cepa de campo de ADV, o la aplicación de vacunas víricas modificadas vivas o Inactivadas que contienen gpl. La presencia de anticuerpos anti-ADV detectados

por el ensayo HerdChek Anti-ADV Verificación y/o Screening junto a la ausencia de anticuerpos al antígeno gpl como se detecta por el ensayo anti-gpl, Indica una respuesta únicamente a la vacuna gpl-negativa.

| | | | |
|----|---|---------------|---------------|
| 1. | Placas tapizadas con antígeno ADV | 6 | 30 |
| 2. | 1 Frasco de Conjugado anti-ADV gpl: peroxidasa de rábano (HRPO) en solución tampón con estabilizantes de proteínas; con gentamicina como conservante | 60 ml | 350 ml |
| 3. | 1 Frasco de Control Negativo — suero porcino que no reacciona frente al antígeno ADV gpl; en solución tampón con estabilizantes de proteínas; con azida sódica como conservante | 5 ml | 5 ml |
| 4. | 1 Frasco de Control Positivo — Anti-gpl en solución tampón con estabilizantes de proteínas; con azida sódica como conservante | 5 ml | 5 ml |
| 5. | 1 Frasco de Diluyente de la Muestra: solución tampón con estabilizantes de proteínas; con azida sódica como conservante | 120 ml | 300 |
| G. | 1 Frasco de Solución de Lavado: solución tampón fosfato concentrada (10x); con gentamicina como conservante | 1 x 235 ml | 3 x 480 ml |
| H. | Frasco de Sustrato TMB | 60 ml | 315 ml |
| I. | 1 Frasco de Solución de Frenado | 60 ml | 315 ml |

Material necesario no suministrado:

Pipetas de precisión adecuadas para dispensar 50 y 100 μ l, o aparatos de dispensación múltiple. Los volúmenes de los reactivos listados en el apartado de procedimiento de la prueba requieren una pipeta de precisión de $\pm 5\%$

Puntas de pipetas desechables.

Probetas graduadas de 500 ml para la solución de lavado.

Lector de placas de 96 pocillos.

Tubos de vidrio o plástico para la dilución de las muestras.

Agua destilada o desionizada.

Aparato para la dispensación Y aspiración de la solución de lavado (lavador).

Preparación de las muestras:

Diluir las muestras a analizar en base 2 (1:2) en diluyente para las muestras. Estar seguro de cambiar las puntas de pipeta para cada muestra. Hay que homogenizar las muestras antes de dispensarse en la placa adsorbida con ADV.

Preparación de la solución de lavado.

El concentrado de lavado debe llevarse a temperatura ambiente (18°C - 25°C) y agitarse para asegurar la disolución de cualquier sal precipitada. El concentrado de lavado debe diluirse 1 a 10 con agua destilada o desionizada antes de usarlo (por ejemplo 30 ml de concentrado más 270 ml de agua por cada placa a analizar).

Procedimiento del test:

Deje que los reactivos alcancen la temperatura ambiente (18°C – 25°C) y luego agítelos suavemente por Inversión y con un movimiento circular.

Tomar la placa o las placas adsorbidas con antígeno y registrar la posición de las muestras.

Dispensar 100 µl de Control Negativo (DILUCION 1:2) de los pocillos A1 Y A2.

Dispensar 100 µl de Control Positivo (DILUCION 1:2) en los pocillos A3 y A4.

Dispensar 100 µl en muestra diluida en los pocillos apropiados.

Incubar 60 minutos (± 5 minutos) a temperatura ambiente (18°C – 25°C) o de noche a 2°C - 8°C.

Lavar cada pocillo con aproximadamente 300 µl de Solución de Lavado de 3 a 5 veces. Aspirar el contenido líquido de todos los pocillos después de cada lavado. Evitar que la placa se seque entre los lavados y antes de añadir el conjugado. Después de la última aspiración del líquido, sacudir el líquido residual de cada placa en material adsorbente de forma suave pero firme.

Dispensar 100 µl de Conjugado anti-ADV gpl:HRPO en cada pocillo.

Incubar 20 minutos (± 1 minuto) a temperatura ambiente ($18^{\circ}\text{C} - 25^{\circ}\text{C}$).

Repetir el paso 6 de lavado.

Dispensar 100 µl de Solución Sustrato TMB en cada pocillo del test.

Incubar a temperatura ambiente ($18^{\circ}\text{C} - 25^{\circ}\text{C}$) durante 15 minutos (± 1 minuto).

Dispensar 50 µl de Solución de Frenado en cada pocillo para parar la reacción.

Medir y registrar la A(650) de las muestras y controles.

Calcular los resultados.

Resultados:

Para que el ensayo sea válido, la media A(650) del Control Negativo menos la media A(650) del Control Positivo debe ser mayor o Igual a 0,300. En ensayos no válidos, se debe sospechar de la técnica y el análisis se deberá repetir siguiendo una revisión minuciosa de las Instrucciones del producto. La presencia o ausencia de anticuerpos frente al antígeno gpl se determina calculando el valor de Inhibición de cada muestra.

Ver la sección "Cálculos" de estas Instrucciones para explicación.

Nota: IDEXX Laboratories, Inc. Tiene disponibles instrumentos y sistemas de software los cuales calculan los valores medios y de Inhibición y proporcionan datos resumidos.

Interpretación de los resultados:

Si la Inhibición es mayor o Igual al 40% la muestra se clasifica como positiva en anticuerpos frente al antígeno gpl de ADV.

Si la Inhibición es mayor o Igual al 30% pero menor que el 40% la muestra se clasifica como sospechosa de en anticuerpos frente al antígeno gpl de ADV y es una candidata para repetirse en un test posterior.

Si la Inhibición es menor que el 30% la muestra se clasifica como negativa en anticuerpos frente al antígeno gpl de ADV.

Nota: Confirmar todos los resultados positivos por duplicado.

| | | |
|----|---|---|
| 1. | Cálculo de la Media de Control Negativo (NCX): | $\frac{A1 \cdot A(650) + A2 \cdot A(650)}{2}$ |
| 2. | Cálculo de la Media del Control Positivo (PCX): | $\frac{A3 (650) + A4 (650)}{2}$ |
| 3. | Cálculo de inhibición %: | $\frac{(NCX - muestra \cdot A(650))}{NCX} \times 100$ |

(IDEXX, 2010)

Bibliografía:

- ▶ Arias Marisa., Sierra Miguel Ángel, Sanchez-Vizcaino Jose Manuel. (2008); *El Cerdo Ibérico, Una revisión transversal*; La enfermedad de Aujeszky. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. ISBN: 978-84-8474-244-9. Disponible en línea:
<http://www.sanidadanimal.info/cursos/curso/2/etiologia.htm>

- ▶ Brunori J. C. (2013). Producción de Cerdos en Argentina: Situación, Oportunidades y Desafíos. Sitio argentino de Producción Animal. EEA INTA Marcos Juárez. Disponible en línea:
<http://www.produccion-animal.com.ar>.

- ▶ Busso J., Ambrogi A., Pelliza B., Dic Cola G., Schneider M. (1997). Brucelosis en Sistemas de Producción Porcina al Aire Libre. Departamento de Patología Animal. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Rio Cuarto.

- ▶ Cánepa, E. (2002). Herpesvirus. *Instituto de higiene*. Universidad de la República - Facultad de Medicina. Montevideo - Uruguay. Disponible en Línea:
<http://www.higiene.edu.uy/cefa/Libro2002/Cap%205.pdf>

- ▶ García Sofia; 2007; El mercado de carne de cerdo en Argentina y en el mundo. Fericerdo. Ed. INTA E.E.A Marcos Juárez. *Asociación Argentina de Productores de Porcinos*. Disponible en línea:
http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_porcina/00-carne_porcina/75-mercado.pdf

- ▶ Grimoldi F., Guida N., Barboni de Stella A. M., Picos J.A., Moras E. V.; 2000; Brucelosis Porcina: Relevamiento Serológico en la Región Pampeana. Área de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires.

- ▶ Guida Daza, C. (2012). En busca de la sustentabilidad de la Empresa Agraria. Revista MOTIVAR, Mercado, *Opiniones y Tendencias de la Industria Veterinaria Argentina*. Edición N° 117. Disponible en línea:
<http://www.motivar.com.ar/2012/09/que-necesita-la-produccion-porcina-para-ser-mas-eficiente/>
- ▶ IDEXX, 2010. Manual HerdChek, H. Gustalson DP, Pseudorableso, Ieman AD. Glock RO. Meneling WL, Penny RH. Schon E, SIJaw S, eds. Disease 01 Swlne, 5th ed, Ames, Iowa: The Iowa State University Press;1984:209-223, N° do Roglstro: 90379
- ▶ Iglesias D. H. Ghezan G. (2011).Análisis de la Cadena de la Carne Porcina en la Argentina. Estudios Socioeconómicos de los Sistemas Agroalimentarios y Agroindustriales. Edición n° 12. INTA.
- ▶ Marzá Cardellat, V. (2004) La enfermedad de Aujeszky del ganado porcino. *Comunidad Valenciana Agraria*. Disponible en línea:
<http://www.ivia.es/sdta/pdf/revista/ganaderia/26tema11.pdf>
- ▶ Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca [MAGyP]; 2013; Área Porcinos. *Dirección de Porcinos, Aves de Granja y No Tradicionales, con datos de SENASA y Gestión Estratégica de la Información*. MINAGRI. Disponible en línea:
http://64.76.123.202/site/ganaderia/porcinos/02- Informes/ archivos/000006_Evolucion%20Anual%20de%20los%20Indicadores/140319_Evolucion%20anual%20de%20los%20indicadores.pdf
- ▶ Muirhead, Alexander, Carr; 2012; Managing Pig Health, A Reference for the Farm - 2nd Edition. *An introduction to managing health and disease*. Disponible en línea en:

<http://www.thepigsite.com/pighealth/article/35/an-introduction-to-managing-health-and-disease>

- ▶ Muirhead, Alexander, Carr; 2012; Managing Pig Health, A Reference for the Farm - 2nd Edition., *Strategies for preventing disease entry*. Disponible en línea: <http://www.thepigsite.com/pighealth/article/110/strategies-for-preventing-disease-entry>

- ▶ Navarrete P., J. R. (2012). Carne de Porcino. *Panorama Agroalimentario*. 3-19. Disponible en línea: <http://www.tmx0014184870.com/PORCINOTICIAS/Panorama.pdf>

- ▶ Patitucci, A. N; 2009; Filminas de la Cátedra de Nutrición Animal. Universidad Nacional del Noroeste de la provincia de Buenos Aires [UNNOBA].

- ▶ Piscitelli H., Bessone F., Margineda C., Salafia A. (2011) Estudio de la presencia de Brucelosis y la Enfermedad de Aujeszky en dos poblaciones de cerdos del dpto Marcos Juárez y Pte Roque Sáenz Peña/Gral. Roca, de la Pcia de Córdoba. Sanidad Animal INTA. Disponible en línea: <http://inta.gob.ar/documentos/estudio-de-la-presencia-de-brucelosis-y-la-enfermedad-de-ajeszky-en-dos-poblaciones-de-cerdos-de-los-departamentos-marcos-juarez-y-roque-saenz-pena-gral.-roca-de-la-provincia-de-cordoba>

- ▶ Puricelli Estefanía; 2011; Sitio Argentino de Producción Animal. Instituto de Estudios Económicos Bolsa de Cereales. Revista Brangus, Bs. As., 33(63). 60-64. Disponible en línea: http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/origenes_evolucion_y_estadisticas_de_la_ganaderia/126-LAS_CARNES.pdf

- ▶ SAG, 2011; Servicio Agrícola Ganadero; Ministerio de Agricultura de Chile. Disponible en línea:
<http://historico.sag.gob.cl/common/asp/pagAtachadorVisualizador.asp?argCryptedData=GP1TkTXdhRJAS2Wp3v88hKCz3P0ZZ%2FwAAaTC9s9%2FJWY%3D&argModo=&argOrigen=BD&argFlagYaGrabados=&argArchivoId=37811>
- ▶ SENASA (2011). Primera Etapa, Programa Enfermedad de Aujeszky. Unidad de Epidemiología. Instituto de Patobiología. CICVyA – INTA, Agosto 2011.
- ▶ TERRA NOTICIAS. 30/3/13. El consumo mundial de carnes aumenta todos los años. Disponible en línea:
<http://noticias.terra.com.ar/el-consumo-mundial-de-carnes-aumenta-todos-los-anos,8442f8587a2bd310VgnCLD2000000dc6eb0aRCRD.html>
- ▶ Zielinski G. (2000). Fallas Reproductivas en Cerdos: Aspectos Sanitarios. Fericerdo. Área de Producción Animal, EEA INTA Marcos Juárez. Disponible en línea:
<http://www.ciap.org.ar/ciap/Sitio/Materiales/Produccion/Sanidad%20y%20Bioseguridad/Enfermedades%20Reproductivas/Fallas%20reproductivas%20en%20cerdos.pdf>