

BIBLIOTECAS UNACH
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE CHIAPAS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

CAMPUS II

**ESTUDIO SEROEPIDEMIOLOGICO DE LA
ENFERMEDAD DE AUJESZKY EN GRANJAS
TECNIFICADAS DEL ESTADO DE CHIAPAS.**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
EN PRODUCCION ANIMAL SUSTENTABLE**

PRESENTA

MVZ. MIGUEL ANGEL MANDUJANO MONTERO

**DIRECTOR DE TESIS:
MVZ. MSc. RAFAEL MILO AGUILAR.
ASESOR DE TESIS:
Biol. MC. FRANCISCO RODRIGUEZ GALLEGOS.**



TUXTLA GUTIERREZ, CHIAPAS.

DICIEMBRE DEL 2009.



No. ADQ *1E011238*
SISTEMA BIBLIOTECARIO
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE CHIAPAS
DORSERA

DEDICATORIAS

A MI ESPOSA:

JANETH

Con todo el amor que me has dado y gracias
a ti he podido concluir una meta más
en mi vida.

A MIS HIJOS:

MIGUEL ANGEL Y JANETH

Por su comprensión.

A MIS PADRES:

MIGUEL ANGEL Y LUCRECIA

Con cariño y respeto. Por guiarme
Por el camino del estudio y darme
Lo más valioso para luchar en la vida.

LISTA DE CONTENIDO

	<u>Página</u>
I.- INTRODUCCIÓN	1
II.- REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1.- Definición.....	3
2.2.- Antecedentes.....	3
2.3.- Etiología.....	5
2.4.- Epidemiología.....	6
2.5.- Patogenia.....	8
2.6.- Signos clínicos.....	10
2.7.- Aspectos inmunológicos.....	13
2.8.- Diagnóstico.....	14
III.- MATERIAL Y METODOS.....	17
3.1.- Localización del área de estudio.....	17
3.2.- Población objetivo.....	17
3.3.- Determinación del tamaño de la muestra.....	19
3.4.- Diseño metodológico.....	21
3.5.- Metodología de laboratorio.....	24
3.5.1.- Interpretación de la muestra.....	25
3.6.- Calculo de la tasa de prevalencia.....	26
IV.- RESULTADOS.....	27
V.- DISCUSION.....	30
VI.- CONCLUSIONES.....	31
VII.- LITERATURA CITADA.....	32
VIII.- ANEXOS.....	38

LISTA DE CUADROS

Cuadro	<u>Página</u>
1.- Distribución por número de muestras por zonas y por municipios dependiendo del número de granjas muestreadas.	20
2.- Tasa de prevalencia global de anticuerpos contra el VEA en granjas comerciales del estado de Chiapas.	27
3.- Prevalencia estimada de la enfermedad de Aujeszky en cerdos de granjas tecnificadas por municipio del estado de Chiapas.	27

LISTA DE FIGURAS

Figura	<u>Página</u>
1.- Localización del área de estudio.	18
2.- Sujeción de un cerdo por el hocico.	22
3.- Obtención de la muestra sanguínea.	22
4.- Procedimiento de aretado para la identificación del animal.	23
5.- Centrifuga para la obtención de sueros libres de eritrocitos.	23
6.- Material para el monitoreo.	23
7.- Material para la obtención de las muestras.	24
8.- Muestras en viales y hielera para envió.	24
9.- Número de muestras por municipio para el diagnostico de la Enfermedad de Aujeszky en 86 granjas tecnificadas en el estado de Chiapas.	29

RESUMEN

La presente investigación se realizó en 86 granjas tecnificadas del estado de Chiapas, con un total de 3870 muestras en 20 municipios, con el objeto de determinar la presencia de anticuerpos contra el virus de la Enfermedad de Aujeszky (EA), así como también la seroprevalencia de esta enfermedad en cerdos sin distinción de raza, sexo y antecedentes de vacunación.

Para determinar el tamaño de muestra, se utilizó la fórmula descrita por Daniel (1987), con un muestreo de tipo cuota.

Las muestras serológicas fueron procesadas en el laboratorio de Investigaciones Aplicadas S.A. de C.V. (IASA) del estado de Puebla, mediante la utilización de la prueba de Inmunoensayo enzimático (ELISA), obteniéndose como resultado ninguna muestra positiva de las 3870 analizadas, lo cual representa una tasa de prevalencia global del cero %.

En base a los resultados obtenidos en la presente investigación donde se encontró una seroprevalencia global del cero %, se considera que las medidas de bioseguridad están dando resultados positivos para la porcicultura tecnificada, así también por el estricto control en la movilización de animales en el estado.

I.- INTRODUCCIÓN

Una de las principales actividades pecuarias que más ha experimentado avances tecnológicos en las últimas décadas, es la porcicultura, la cual es un eslabón importante en la generación de proteína de origen animal destinado para el consumo humano. Sin embargo, en México y en lo particular en el sureste, este desarrollo se ha visto limitado por una serie de factores socioeconómicos por lo que en algunas entidades del estado de Chiapas predomina la explotación llamada de traspatio, la que a su vez ,acarrea problemas de tipo zoonosarios a las explotaciones comerciales, particularmente las entidades patológicas de origen viral, como lo es la Enfermedad de Aujeszky (EA), la cual, en los últimos años ha afectado a las explotaciones chiapanecas ya que en hembras reproductoras ocasionan perdidas reproductivas, en cerdos adultos transcurre aparentemente normal, mientras que en los lechones provoca un cuadro nervioso severo, lo cual produce un elevado índice de mortalidad, por otro lado cabe mencionar que el virus de la EA afecta además a otros animales en condiciones de campo, tales como al cerdo, bovinos, perros, gatos, ovinos, caballos, coyote, tejón entre otros, también afecta en condiciones de laboratorio al ratón, rata, cuyo, conejo, pollo, patos y gansos. Ahora bien, el estado de Chiapas reúne las condiciones medio-ambientales que favorece la presencia del agente, por eso se cree que el virus se encuentra ampliamente diseminado, ya que existen gran cantidad de reservorios silvestres, además de la carencia de infraestructura y el mal control en la movilización de animales. Es por ello, que México se rige bajo lo Norma Oficial Mexicana -007-ZOO-1994, la cual fue publicada en del Diario Oficial de la Federación con fecha de 19 de Septiembre de 1994 y su última modificación fue el 03 de Junio de 1998. De ahí que el estado de Chiapas cuente con la campaña en contra de la Enfermedad de Aujeszky, la cual se encuentra en zona de erradicación a partir del 06 de Diciembre del 2008. Por lo anteriormente expuesto, el objetivo de la presente investigación fue determinar la presencia de anticuerpos contra el virus de Aujeszky, así como la seroprevalencia de esta enfermedad, mediante la técnica de ELISA, en cerdos de granjas tecnificadas del estado de Chiapas, así como determinar el costo del muestreo serológico.

HIPOTESIS:

La Enfermedad de Aujeszky se encuentra aparentemente diseminada en el estado de Chiapas por las condiciones medioambientales que favorecen la presencia del virus, así como por el número de reservorios silvestres presentes en la entidad.

II.- REVISIÓN DE LITERATURA

2.1.- Definición:

La Enfermedad de Aujeszky es una entidad patológica, infecciosa aguda, provocada por un virus que afecta al sistema nervioso central (S.N.C.) que ataca a los animales domésticos como son los bovinos, ovinos, caprinos, felinos, zorros, tejones, ratas e incluso al hombre aunque con menor severidad, esta asociada principalmente con los cerdos y se caracteriza especialmente por intenso prurito local, afectando a cerdos jóvenes (lechones) ocasionándoles la muerte, más que en los cerdos adultos (Merck, 1988).

El virus se trasmite en los cerdos principalmente por contacto directo, encontrándose presente en las secreciones nasales, además de saliva y pudiendo ser inhalado en gotas de aerosol. Existe también la transmisión mecánica, mediante personas, objetos y equipos (Santillán, 1985.)

En la actualidad es una de las enfermedades que ocasionan problemas sanitarios para la porcicultura a nivel nacional, además de las pérdidas económicas que causa en las granjas, la cual representa una barrera comercial muy importante, impidiendo con esto el comercio a nivel nacional e internacional de los cerdos y sus productos (Aguilera et al ., 1996).

2.2. - Antecedentes:

La Pseudorabia porcina ha existido en EE.UU. durante muchos años, existe la prueba de brotes en Ohio por lo menos desde 1813. A la enfermedad se le denominó "Comezón loca" en la literatura de los EE.UU. ya ha persistido en la actualidad en el lenguaje popular (Dunne, 1967).

Aladar Aujeszky, en el año de 1902 fué el primero en descubrir la enfermedad en Hungría, observó su presencia natural en el ganado vacuno,

perros, gatos, y transmitió el virus a los conejos. En un principio sospecho que tal padecimiento era rabia, pero el comportamiento del agente causal en el conejo lo diferenciaba de Aujeszky, por lo tanto, lo describió como una nueva enfermedad infecciosa de los animales domésticos, por su parecido en ciertos aspectos clínicos de la enfermedad a los de la rabia, por lo cual se deriva su denominación como Pseudorabia (Neundorf et al., 1974).

Se hizo un profundo estudio del agente causal de la enfermedad de Aujeszky en conejos, cobayos, ratones experimentalmente y se observó que dicho agente se encontraba presente no solo en el S.N.C. sino que también en la sangre y que permanece viable en glicerina durante un periodo relativamente largo y que puede ser inactivado por fenol y por el calentamiento. Schmiedhotfer y Sang Lorgi en los años de 1910 y 1914, respectivamente demostraron la filtrabilidad del virus.

Shope en el año de 1913, estableció que la comezón loca en los bovinos de Iowa, EE. UU., era lo mismo que la enfermedad de Aujeszky y que el virus era idéntico desde el punto de vista inmunológico a la cepa húngara de Aujeszky (Dunne, 1967).

La enfermedad de Aujeszky o Pseudorabia, empezó a diseminarse alrededor de 1965 en Europa Occidental. Por lo menos 10 años antes, la enfermedad había causado problemas en los países centrales y del este de Europa. En Suecia se diagnosticó por primera vez en 1965. Desde esa fecha pocos brotes ocurrieron hasta 1981 (2 - 6 brotes por año). De 1981-1984 hubo 77 brotes en el sur y suroeste de Suecia donde la industria porcina se ha expandido en la última década (Gustafson, 1986).

La población porcina en muchos países de Europa y América se encuentran infectadas enzooticamente con el virus de la enfermedad de Aujeszky (Morrison, 1992), siendo endémica en todos los países con densas poblaciones de cerdos, excepto Japón, Australia y Canadá, así como en Dinamarca y Gran Bretaña, en donde los programas de erradicación se han complementado (Thawley et al., 1992).

En la República Mexicana, la enfermedad ha tenido una presentación como brotes epizooticos esporádicos en bovinos, tal vez debido a que la infección en esta especie es terminal. La Dirección General de Sanidad Animal de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), ha venido realizando diagnósticos de Aujeszky desde 1969. El primer brote fué reportado en 1971, sin embargo, como el comportamiento de la enfermedad se considera peculiar y específico, no fue hasta 1973 que se presentó en cerdos. (Balderas, 1979). En México, la enfermedad es endémica en las principales áreas porcícolas del centro del país, resaltando algunas zonas donde la prevalencia es tal, que se definen como hiperendémicas (Iglesias, 1996; Morilla et al ., 1997).

Durante las pasadas décadas, la enfermedad de Aujeszky ha causado considerables pérdidas económicas en la industria porcina de muchos países. (De Smet et al ., 1990), De ahí, que esta enfermedad sea de reporte obligatorio y se encuentre estipulada en la NOM-007-ZOO-1994, publicada en el DOF el 19 de septiembre de 1994, y modificada el 12 de junio de 1995, 15 de agosto de 1996 y 3 de junio de 1998, en donde especifica diferentes fases, las cuales son, control, escasa prevalencia, erradicación y libre.

El estado de Chiapas en la actualidad se encuentra en zona de erradicación a partir del 06 de diciembre de 2008.

2.3.- Etiología:

El virus de la enfermedad de Aujeszky pertenece al grupo herpes siendo el *Herpes suis* el agente causal de la enfermedad. Mide de 150 a 180 nm., consta de un cuerpo que contiene DNA, posee una cápside (envoltura proteica) es icosaédrico compuesto de 162 capsómeros y una membrana lipoprotéica exterior (Correa, 1991).

El virus esta compuesto de un núcleo, cuyo diámetro es de 75 nm. y una nucleocápside de 105 a 110. El núcleo contiene el genoma constituido por DNA de doble banda, conteniendo un pH estable de 5 a 13 (Ambrogui, 1983).

El agente causal se cultiva en membrana corioalantoidea de embrión de pollo y con destacado efecto citopatógeno sobre los más variados sistemas de cultivos celulares., se puede utilizar con mayor frecuencia los fibroblastos de embrión de pollo así como los cultivos celulares primarios de riñón de lechón y también de riñón de ternero (Neundorf et al. , 1974).

El virus es sensible al éter y se inactiva rápidamente por el calor (37°C, durante 30 minutos), y por bajas concentraciones de soluciones desinfectantes (Gustafson, 1986).

El virus se conserva por largo tiempo en el ambiente donde se encuentran terrenos húmedos y frescos, mientras más baja sea la temperatura más tiempo se conserva el virus (Pensaert et al., 1991).

En la orina puede sobrevivir hasta un mes y en el estiércol apilado correctamente es destruido en pocos días (Neundorf et al. ,1974).

2.4. - Epidemiología:

Esta enfermedad es importante en zonas de gran concentración porcina y en particular en donde ha existido una rápida expansión de la población porcina como en Bélgica, Francia, Singapur y algunas regiones de EE.UU. (Ambrogui, 1983).

En la República Mexicana se ha diagnosticado en diferentes estados, actualmente la situación epidemiológica es de 18 estados libres, 4 en erradicación, en el cual se encuentra el estado de Chiapas desde el 06 de Diciembre del 2008 y 10 estados en escasa prevalencia.²

En la medida que se van mejorando los sistemas de bioseguridad en las granjas tecnificadas, esta enfermedad se va reduciendo drásticamente, y con ello también las pérdidas económicas; abriendo con esto nuevas perspectivas para la comercialización de productos y subproductos porcinos, la enfermedad clínica primaria ocurre primeramente en cerdos, los casos que ocurren en otras especies como en los bovinos, ovinos, caprinos, caninos, felinos, zorra y la rata son raros y generalmente mortales, típicamente la enfermedad se difunde rápidamente en zahúrdas infectadas, el cual tiene un periodo de incubación de 3 a 6 días y la

etapa aguda del brote dura de 1 a 2 meses. En cerdos adultos, la enfermedad puede ser asintomática y los animales afectados generalmente se recuperan, en las piaras la mayor morbilidad ocurre en lechones lactantes, pero conforme el brote continua los lechones se inmunizan pasivamente a través del calostro de la madre, la mayor incidencia puede desplazarse a los cerdos ya destetados (Blood et al ., 1992).

En cerdos adultos la mortalidad es de 0-2%, en los cerdos de 3-5 meses puede llegar a ser de un 80% y en lechones en la etapa de lactación generalmente es del 100%., las cerdas gestantes susceptibles abortan (Gustafson, 1986).

Los cerdos son los huéspedes naturales y el reservorio primario, transmitiendo la infección a otros animales domésticos y silvestres. El virus puede transmitirse de dos formas: directa o indirecta. En forma directa por medio de secreciones nasales y saliva, ya que puede ser inhalado en gotas o aerosol. La forma indirecta es mecánica a través de personas, objetos, alimentos o por medio del aire (Castro et al ., 1991).

La enfermedad puede transmitirse durante la monta, ya que el virus puede estar en las excreciones de la vagina y del prepucio, se desconoce si el virus puede ser excretado en el semen, orina y saliva (Taylor, 1983).

En ciertos países se ha responsabilizado de la diseminación de la EA al traslado de sementales (Connor, 1991).

La transmisión por medio de basofia es poco probable, ya que el virus desaparece rápidamente de la carne aún congelada a 18 grados bajo cero con una máxima supervivencia de 35 días. La diseminación posiblemente puede ser a través de vehículos, aire o al traslado de cerdos muertos (Rosales, 1984).

También se encontró que la infección de la enfermedad de Aujeszky a través del aire se puede producir a un kilómetro de distancia (Maes, 1991).

²→SENASICA, SAGARPA (2009).

Por otra parte, Orantes (1997) en un estudio realizado en la región noroeste del municipio de Villaflores, Chiapas, con respecto a la enfermedad de Aujeszky (EA) encontro seronegatividad de los sueros desafiados con la técnica de ELISA.

Así mismo, Abarca (1997) menciona con respecto a la prevalencia de anticuerpos del virus de Aujeszky encontrada en el municipio de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, en donde de un total de 136 muestras serológicas provenientes de diferentes granjas, 16 se encontrarán positivas a la técnica de ELISA, representando un 11.76% de prevalencia global estimada en la detección de anticuerpos. De acuerdo a los estratos en que se dividió la investigación, la prevalencia global de cada uno de ellos, fue del 54.54%, para el estrato 1, 13.04% para el estrato IV, 153% para el estrato III y finalmente se determino seronegatividad para el estrato II.

Finalmente Mandujano (1998) reporto una tasa de prevalencia del 7.77% en el municipio de Suchiapa, Chiapas.

2.5.- Patogenia:

La patogenia de la enfermedad de Aujeszky puede variar dependiendo de la edad al momento de la infección, de la cepa viral, la dosis infectante, la ruta de infección, y el grado de inmunidad (Kluge *et al.*, 1992).

La ruta natural de la entrada del virus de la enfermedad de Aujeszky es el tracto respiratorio, el ciclo inicial de la replicación viral tiene lugar en las células linfoides y epiteliales y por lo tanto hay una respuesta inflamatoria local en las vías respiratorias superiores (Maqueda, 1984).

a).- Efecto en el sistema nervioso central (S.N.C.)

La vía de entrada del virus ocurre desde la mucosa nasal y oral, empezando en los nervios craneales principalmente el Olfatorio 1, Trigémino V, Glossofaríngeo

IX e Hipogloso XII, llegando así al puente de Varolio, médula oblongada y lóbulos olfatorios; todo esto ocurre en un lapso de 24 horas aproximadamente (Castro, 1997).

Después de la infección intraneural, el virus se establece en los ganglios neurales y de esta forma permanece en estado de latencia. La replicación viral tiene lugar primero en la médula oblongada y el puente de Varolio y la invasión al cerebro y cerebelo sigue después. En lechones recién nacidos e infectados, la replicación primaria ocurre en el área orofaríngea y tejidos respiratorios en donde el virus entra a los nervios para difundirse en el S.N.C. sin embargo, generalmente ocurre una viremia y a menudo las lesiones se encuentran en órganos internos tales como el hígado y el bazo. El significado de estas lesiones con relación al desarrollo de los signos clínicos no es claro debido a que los lechones con desordenes nerviosos mueren rápidamente (Kluge *et al.*, 1992).

b) -Efecto en el tracto reproductivo

Respecto a la implicación de la enfermedad en el tracto reproductor, se ha demostrado que las infecciones del virus de la enfermedad de Aujeszky en cerdas primerizas durante el primer y principios del segundo tercio de gestación, pueden resultar en invasiones virales del útero, placenta y fetos (Maqueda, 1984).

La infección trasplacentaria, hacia el segundo tercio de gestación ocasiona aborto de fetos frescos y de momias, o bien nacimientos de lechones débiles, los cuales posteriormente se mueren (Pensaert *et al.*, 1991).

Martell (1972), observó que la mayoría de las placentas de hembras que abortaron por infección del virus de la EA tienen diferentes grados de placentitis necrotizantes, observándose al microscopio numerosas partículas virales en la membrana coriónica. Así mismo, fetos abortados fueron examinados, mostrando necrosis coagulativa típica en el hígado, bazo, glándulas adrenales y ganglios linfáticos. Esto indica que las lesiones placentarias y fetales causadas por el virus son primarias.

El virus ha sido aislado de muestras de semen de cerdos infectados natural o

artificialmente pero parece que este se origina del área prepucial y no de los testículos (Maqueda, 1984).

La inoculación en sementales jóvenes intranasal e intraprepucialmente para determinar los efectos del virus de la enfermedad de Aujeszky sobre el tracto reproductivo de los machos. En todos los sementales se observó anomalías en el semen, 21 días después de la inoculación, con recuperación parcial a los 50 días (Pastoret et al., 1982).

c).- Efecto en el tracto respiratorio

Al replicarse el virus en la mucosa nasal y faríngea, rápidamente pasa a tráquea por medio de la reacción mecánica del aire y llega hasta alvéolos en donde persiste la replicación; muchas veces esto favorece la proliferación de bacterias, principalmente Pasteurella, provocando con esto problemas neumónicos. Esto sucede de 24 a 72 horas. La replicación del virus en el tracto respiratorio alto y en mucosa faríngea puede o no producir la patogenicidad (Albina et al., 1995).

2.6. - Signos clínicos:

Una vez que el virus ha ingresado a una población susceptible, los signos clínicos van a depender de la cepa viral, la dosis infectante, la edad de los cerdos infectados, la ruta de infección, el estado inmunológico de los animales y las condiciones medioambientales (Kluge et al., 1992, Leontides et al., 1994) los animales jóvenes son los más severamente afectados prevaleciendo los signos nerviosos en lechones lactantes y recién destetados y los signos respiratorios en animales jóvenes y adultos, lo que demuestra la predilección del virus por el tejido nervioso y respiratorio, reportando la literatura una marcada diferencia en la respuesta de infección entre piaras, habiendo poca mortalidad por el virus, y siendo comunes las infecciones bacterianas secundarias (Vannier, 1995).

El periodo de incubación en los lechones lactantes es muy corto y va de 2 a 4 días, los lechones se notan tristes, con fiebre de 41°C y anorexia. Algunos lechones desarrollaran signos nerviosos dentro de las 24 hrs. Del inicio de los signos, los cuales progresan a temblor, hipersalivación, incoordinación, ataxia y nistagmos a opistotonos y severos signos epileptiformes. Los cerdos afectados se sientan como perros por parálisis posterior, mientras que otros caminan en círculos o están echados y con movimientos de pataleo. Puede haber vomito e incluso diarrea, pero ninguno de estos signos clínicos son consistentes. Cerdos con signos que involucran al sistema nervioso central, generalmente mueren de 24 a 36 hrs. La mortalidad en lechones lactantes es alta llegando al 100 % (Gómez-Tejedor, 1992).

En piaras con diferente estado inmune al virus de la enfermedad de Aujeszky, los signos clínicos pueden verse en algunas camadas, o algunos cerdos de la camada, mientras que las camadas vecinas se notan sanas o normales. Si las cerdas son infectadas poco antes del parto, los lechones nacerán débiles y mostraran los signos clínicos inmediatamente, estos mueren en el primer o segundo día de vida (Ramírez *et al.*, 1995).

Los cerdos destetados de 3 a 9 semanas, los mas jóvenes mostraran los mismos signos que los lactantes, sin embargo los signos clínicos son menos severos y menos cerdos desarrollan los signos nerviosos de la enfermedad, los cuales invariablemente se derivan en coma y muerte. La mortalidad en cerdos de 3 a 4 semanas de edad puede llegar al 50% en brotes severos, los cerdos mas grandes de este grupo se muestran tristes, con anorexia y fiebre de 41-42°C dentro de los 3 a 6 días postexposición, regularmente los signos respiratorios están presentes, caracterizados por estornudos, descargas nasales y disnea, progresando a tos severa. Los cerdos con estos signos pierden significativamente la condición corporal y peso. La duración de los signos clínicos es usualmente de 5 a 10 días, la mayoría de los cerdos muestran una rápida y total mejoría una vez que la fiebre y la anorexia desaparece. Los cerdos que desarrollan signos nerviosos generalmente mueren, así como los cerdos con signos respiratorios que desarrollan infecciones bacterianas secundarias o concurrentes como son la

Pasteurella multocida, Actinobacillus pleuropneumoniae, Mycoplasma hyopneumoniae o el virus del Síndrome Respiratorio Reproductivo del Cerdo (PRRS) (Albina et al., 1995). Los cerdos mas severamente afectados y que sobreviven, especialmente aquellos que desarrollan signos nerviosos, pueden manifestarse aturdidos y mostrar signos finales, como balanceo de la cabeza, estos cerdos alcanzan el peso de mercado de 1 a 2 meses después que el grupo (Kluge et al., 1995).

En los cerdos en desarrollo y finalización, los signos nerviosos son raros, la morbilidad frecuentemente es muy alta, cercana al 100% pero en casos no complicados la mortalidad es inferior al 1 o 2%, los signos nerviosos pueden ocurrir, pero solo esporádicamente pueden variar de temblores musculares leves a convulsiones violentas. Típicamente los signos clínicos aparecen en 3 a 6 días y se caracterizan por respuesta febril de 41-42°C, depresión, anorexia y de medianos a severos signos respiratorios. La rinitis desarrollada causa estornudos y descarga nasal, que progresa a neumonía, tos seca y disnea, especialmente cuando los cerdos se mueven. Estos cerdos se retrasan y pierden peso. La duración de los signos clínicos es usualmente de 6 a 10 días y se recuperan rápidamente una vez que la fiebre desaparece y el apetito regresa. Aunque la ganancia compensatoria recupera algo de peso, se pierde por lo menos de 5 a 10 días a la venta (Iglesias et al., 1989).

Finalmente las cerdas de pie de cría y sementales desarrollan signos clínicos de tipo respiratorio, principalmente muy similares a los descritos para cerdos en desarrollo y finalización, en el caso de las cerdas gestantes regularmente abortan, y en una explotación de signo completo este es el primer signo clínico observado; las cerdas gestantes infectadas en el primer tercio de gestación pueden reabsorber los fetos y volver a ciclar. La falla reproductiva debido al virus de la enfermedad de Aujeszky en el segundo tercio de gestación en adelante usualmente se manifiesta por abortos, mortinatos o nacidos débiles, si la infección es muy cercana al parto. La falla reproductiva usualmente tiene una

incidencia baja, ocurriendo en un 20% o menos en cerdas gestantes de la granja. La mortalidad en cerdas y sementales raramente excede al 2% (Kluge et al., 1992).

2.7.- Aspectos inmunológicos:

En términos generales, después de que un antígeno es presentado al sistema inmune, se generan dos respuestas, la respuesta humoral y la celular. La primera se evalúa mediante la utilización de varias pruebas basadas en la medición de anticuerpos. Los anticuerpos son una de las formas mediante las cuales el organismo neutraliza los antígenos extraños, la presencia de anticuerpos no asegurara necesariamente la protección total contra la enfermedad. Esto es particularmente cierto al hablar de la protección contra la infección con el virus de la enfermedad de Aujeszky, en cuyos casos los anticuerpos probablemente tengan una importancia sólo secundaria. No obstante los anticuerpos maternos protegerán a los lechones de los efectos clínicos severos de la enfermedad de Aujeszky durante los primeros días y semanas de vida (Robles, 1990).

Después de cualquier infección, siempre transcurre un tiempo antes de que se desarrollen títulos detectables de anticuerpos, como los anticuerpos anti-gI los que se pueden detectar alrededor de los 14 días post-infección (Tizard, 1983).

Ahora bien, la segunda respuesta es la inmunidad celular, del sistema inmune, es difícil de evaluar en el laboratorio. De hecho en lo que se refiere a la enfermedad de Aujeszky se ha inferido, a partir de experimentos de desafío que lo más probable sea que la inmunidad mediada por las células se estimule de mejor manera después del uso de vacunas activas, en comparación con vacunas inactivadas (Robles, 1990).

Con la vacunación se pueden prevenir los signos clínicos de la enfermedad tanto en la cerda como en los lechones, esta medida no impide que el animal adquiera y permanezca con la infección y por lo tanto se disemine el virus virulento por algún tiempo, por lo que la vacunación debe de ser considerada como una forma de mantener la infección subclínica (García et al., 1989).

2.8.- Diagnóstico:

Según las características de los signos clínicos de la enfermedad, hay bases para establecer un diagnóstico, considerando todos los aspectos, remitiendo muestras al laboratorio para confirmar el diagnóstico. La enfermedad de Aujeszky es de reporte obligatorio. Para confirmar el diagnóstico clínico de la enfermedad de Aujeszky se encuentran disponibles una variedad de técnicas de laboratorio, para demostrar, la presencia de anticuerpos específicos en el suero de los cerdos (White et al., 1996).

Las pruebas más utilizadas para el diagnóstico de la enfermedad de Aujeszky son las siguientes:

- 1.- La Inmunofluorescencia (IF)¹
- 2.- Seroneutralización (SN)¹
- 3.- El Ensayo Inmunoenzimático (ELISA)¹
- 4.- Aislamiento Viral en Cultivo Celular¹
- 5.- Inmunoperoxidasa¹

- 1).- La Inmunofluorescencia (IF)

Esta prueba requiere contar con el equipo y personal capacitado para su desarrollo en el laboratorio, las muestras requeridas son de los animales enfermos (tonsilas y encéfalo) las cuales deben de ser enviadas en congelación y/o en refrigeración. La interpretación de las pruebas se realiza mediante la observación en el microscopio de la presencia o ausencia de fluorescencia específica en el

núcleo de las células de los tejidos examinados y se expresa en positivo, cuando hay presencia de esta fluorescencia y negativo cuando no se observa.¹

2).- Seroneutralización (SN)

Es una técnica muy sensible, pero tiene la desventaja de ser muy tardada pues se necesitan cinco días para obtener los resultados, además se estima que de 0.5 al 1% de las muestras séricas son tóxicas para las células indicadoras, por lo que se hace necesario volver a obtener la muestra.¹

3).- Ensayo inmunoenzimático (ELISA)

Es una prueba serológica que requiere como mínimo 2 ml. de suero, el cual debe de ser enviado al laboratorio en congelación y/o refrigeración. Este suero se coloca en microplacas conteniendo monoestrato celular sensibilizado con virus de la enfermedad de Aujeszky y sus controles negativos y positivos.¹

4).- Aislamiento viral en cultivo celular

Esta técnica se realiza mediante la inoculación de un macerado o suspensión de tejidos (encéfalo, hígado, pulmón, bazo) en cultivo celular de monoestrato formado de células PK15, ESKF o CPK. La prueba requiere de un periodo de incubación de 24 a 36 horas, posteriormente se realiza la observación del efecto citopatogenico que pueda presentarse, la identificación del virus aislado se realiza por la prueba de Seroneutralización usando un antisuero de referencia contra la enfermedad de Aujeszky. La interpretación de la prueba será positiva cuando no se observe efecto citopatogenico en los cultivos celulares y será negativa cuando este efecto se presente.¹

¹→Manual de actualización técnica para aprobación de M.V.Z. en campañas zoonositarias para cerdos (1998).

5).- Inmunoperoxidasa

La técnica de inmunoperoxidasa (IP) es una prueba serológica que requiere como mínimo 2 ml. de suero, el cual debe de ser enviado al laboratorio en congelación y/o refrigeración. Este suero se coloca en microplacas conteniendo monoestrato celular de la línea PK15 previamente sensibilizadas con virus de la enfermedad de Aujeszky y sus controles negativos.

El suero se pone en contacto con el monoestrato, para la interpretación de la prueba, se requiere un microscopio óptico invertido, en donde se colocan las microplacas cuando dos de los pozos de las microplacas que contienen el monoestrato celular infectadas con el virus de la enfermedad de Aujeszky muestran cuando menos una colonia de células teñidas de café rojizo, en el citoplasma y núcleo de estas, se considera la prueba positiva, pero cuando la microplaca que contiene el monoestrato que no se infecto con el virus (controles negativos) se tiñe de color la prueba, se considera inespecifica y tendrá que realizarse una prueba complementaria (Seroneutralización).¹

¹→Manual de actualización técnica para aprobación de M.V.Z. en campañas zoonosanitarias para cerdos (1998).

III.- MATERIAL Y METODOS

3.1.- Localización del área de estudio:

El estado de Chiapas esta localizado en el sureste de México, al norte $17^{\circ} 59'$, al sur $14^{\circ} 32'$ de latitud norte, al este $90^{\circ} 22'$, al oeste $94^{\circ} 14'$ de longitud oeste, conformándose con 118 municipios; con una superficie de $75,634 \text{ km}^2$, el cual representa el 3.8% del territorio nacional, ubicado como el octavo estado mas grande del país. Colinda al este con Guatemala, con una superficie de 658.5 km^2 de zona fronteriza, al oeste con Oaxaca, al norte con el estado de Tabasco, al sur con el Océano Pacífico y al noroeste con Veracruz (INEGI, 1991), (Figura 1).

3.2. - Población objetivo:

Se realizo un muestreo serológico en todo el estado de Chiapas, para determinar la presencia de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Aujeszky, en cerdos de granjas tecnificadas registradas ante SAGARPA, sin distinción de raza ni sexo y sin ningún antecedente de haber sido vacunados.

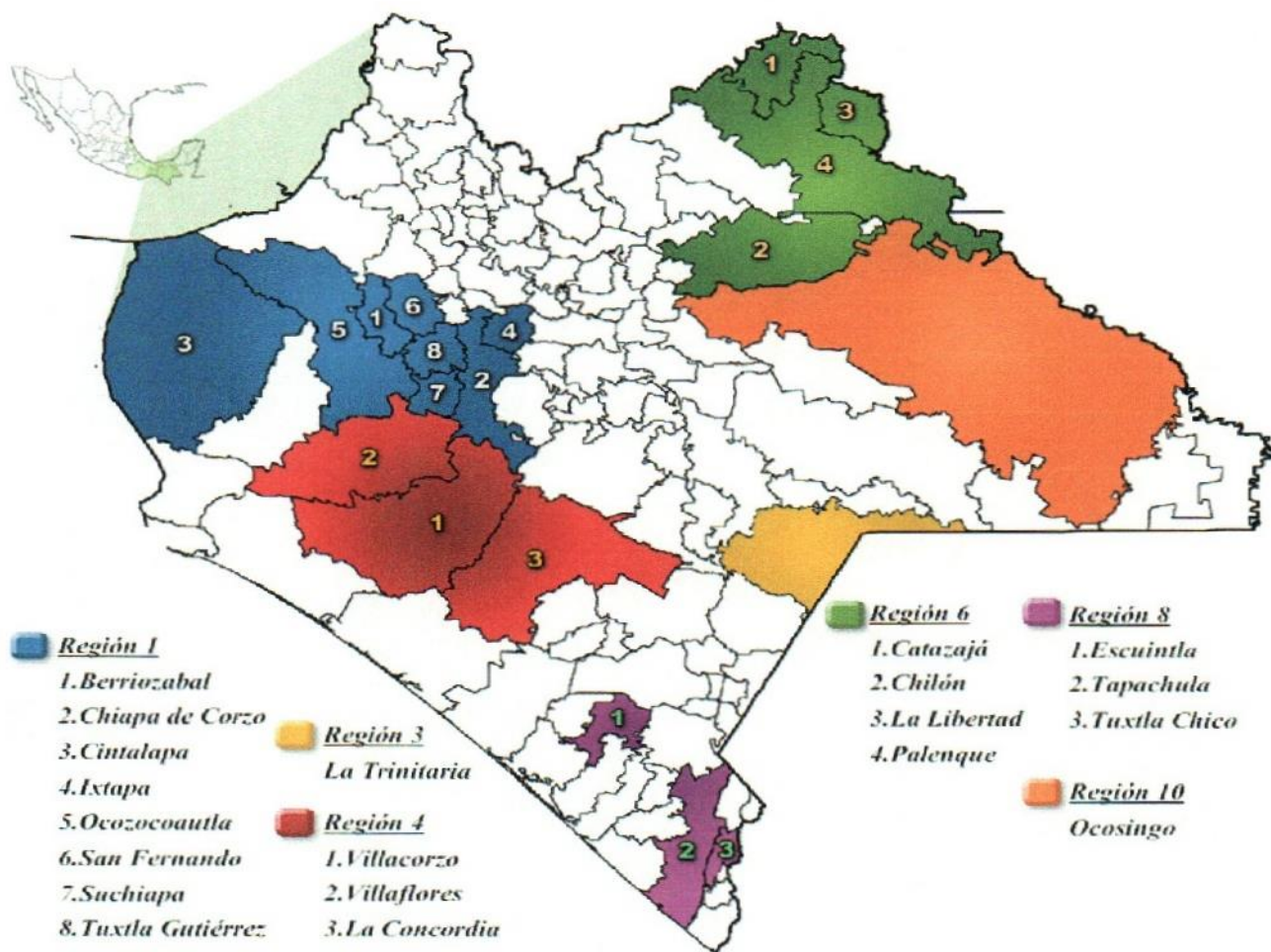


Figura No. 1. Localización del área de estudio.

3.3- Determinación del tamaño de la muestra:

Para llevar a cabo la determinación del tamaño de la muestra, se utilizó la fórmula descrita por Daniel (1990).

$$n = \frac{Z^2 pq}{e^2}$$

n = Tamaño de la muestra.

p = Probabilidad (proporción) de éxito en un evento, la cual es igual al .35

q = (1-P) Probabilidad (proporción) de fracaso en un evento.

e^2 = Intervalo de amplitud del .98 de confiabilidad.

Z^2 = Coeficiente de confiabilidad de la distribución normal estándar, para estimar un intervalo del 95% y que equivale a $(1.96)^2$

$$n = \frac{3.84 (.35) (.65)}{.02}$$

$$n = \frac{.8736}{.02}$$

$$n = 43.68 = 44$$

Con la finalidad de homogenizar el número de las muestras por granjas tecnificadas, estas se redondearan a **45** y de esta manera tenemos la siguiente distribución (Cuadro 1).

Cuadro No. 1. Distribución del número de muestras por zonas y por municipio dependiendo del número de granjas muestreadas.

ZONA 01 CENTRO.

MUNICIPIO	No. DE GRANJAS	No. DE MUESTRAS
BERRIOZABAL	5	225
CHIAPA DE CORZO	8	360
CINTALAPA	4	180
IXTAPA	2	90
OCOZOCOAUTLA	7	315
SAN FERNANDO	6	270
SUCHIAPA	2	90
TUXTLA GUTIERREZ	9	405
TOTAL	43	1935

ZONA 03 FRONTERIZA.

MUNICIPIO	No. DE GRANJAS	No. DE MUESTRAS
LA TRINITARIA	1	45
TOTAL	1	45

ZONA 04 FRAILESCA.

MUNICIPIO	No. DE GRANJAS	No. DE MUESTRAS
VILLACORZO	2	90
VILLAFLORES	10	450
LA CONCORDIA	1	45
TOTAL	13	585

ZONA 06 SELVA.

MUNICIPIO	No. DE GRANJAS	No. DE MUESTRAS
PLAYAS DE CATAZAJA	1	45
CHILON	1	45
LA LIBERTAD	6	270
PALENQUE	13	585
TOTAL	21	945

ZONA 08 SOCONUSCO.

MUNICIPIO	No. DE GRANJAS	No. DE MUESTRAS
ESCUINTLA	1	45
TAPACHULA	5	225
TUXTLA CHICO	1	45
TOTAL	7	315

ZONA 10 OCOSINGO.

MUNICIPIO	No. DE GRANJAS	No. DE MUESTRAS
OCOSINGO	1	45
TOTAL	1	45

TOTAL DE MUNICIPIOS	TOTAL DE GRANJAS	TOTAL DE MUESTRAS
20	86	3870

Por lo tanto el modelo de muestreo utilizando es el de tipo cuota, el cual comprende en diversificar los tipos de animales, como son los de pie de cría, sementales y engorda, tratando con esto de distribuir la muestra en diferentes etapas y áreas físicas de la granja.

3.4. - Diseño metodológico:

Para la obtención de la muestra serológica se inmoviliza al cerdo con una cuerda que sujeta al maxilar superior (Figura 2). Posteriormente se obtiene una muestra de aproximadamente 5 ml. de sangre directamente de la vena cava anterior o bien de la vena yugular, (Figura 3) utilizando para esto, agujas de 21 x 38 mm, con aplicador y tubos vacutainer estériles individuales sin anticoagulante (Figura 6), una vez obtenida la muestra se dejó reposar con una angulación de 45° durante 30 minutos con la finalidad de separar el suero sanguíneo del paquete celular y en la oreja de cada cerdo muestreado se le colocó con una pinza especial un arete para su identificación (Figura 4) y se le anotó en una hoja de campo el número de identificación del tubo de ensayo, la edad, el sexo y el número de identificación del animal (Anexo 1). Posteriormente las muestras fueron

colocadas en una hielera con gel refrigerante para transportarlas al laboratorio donde se centrifugaron a 3000 revoluciones por minuto (rpm) durante 5 minutos (Figura 5) para la obtención de un suero libre de eritrocitos, las que posteriormente se vaciaron en viales, y fueron identificadas y se les coloca cinta parafilm alrededor de la tapa del vial (Figura 8) ya que esta al estar en estado de congelación tienden a abrirse, después se llevaron al congelador hasta el momento de realizar el envío en una hielera (Figura 8) para el diagnóstico de la enfermedad de Aujeszky mediante la prueba de ELISA, misma que se realizaron en el laboratorio de IASA, del estado de Puebla.



Figura No. 2. - Sujeción de un cerdo por el hocico.



Figura No. 3. – Obtención de la muestra sanguínea



Figura No.4. – Procedimiento de aretado para la identificación del animal.



Figura No. 5. – Centrifuga para la obtención de sueros libres de eritrocitos.

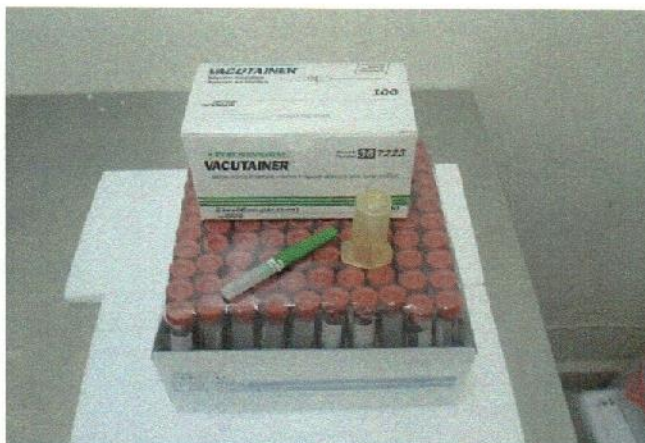


Figura No. 6. – Material para el monitoreo.



Figura No. 7. – Material para la obtención de las muestras.



Figura No. 8.- Muestras en viales y hielera para envío.

3.5.- Metodología de laboratorio:

La técnica utilizada fue la de ELISA, la cual se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante del equipo, de laboratorios IDEXX (Macromedia, inc., 2009).

Para realizar la técnica de ELISA se utilizó el Herdcheck; Anti-ADV/PRV (Antivirus de Aujeszky/ virus de la Pseudorabia) es un inmunoanálisis enzimático diseñado para detectar la presencia del anticuerpo contra el ADV/PRV en suero

porcino, posee placas de 96 pozos que se recubren con antígenos del PRV. A la microplaca sensibilizada con el virus de Aujeszky, se le añade el suero problema y se le incuba a una temperatura ambiente (18 a 23°C), al incubar la muestra de prueba, el anticuerpo específico contra ADV/PRV forma un complejo con los antígenos virales presentes en el pozo adsorbidos, después se lavan los pozos para eliminar el material no ligado, con una solución de PBS tres veces, con 300 microlitros de solución, posteriormente se añade un conjugado antiporcino: peroxidasa de rábano (HRPO) que se une a los anticuerpos porcinos ligados a los pozos y esto se deja incubar durante 20 minutos a temperatura ambiente, en el paso final del ensayo se elimina el conjugado aspirando el líquido de todos los pozos y realizando por cada pozo un lavado con la misma solución de PBS, utilizando la misma cantidad.

Posteriormente se aspira el líquido de todos los pozos después de cada lavado evitando que las placas se sequen entre los lavados. Después de aspirar el líquido del lavado, se golpea suave pero firmemente la placa para transferir el líquido residual al material absorbente; enseguida se añaden a los pozos un sustrato de enzima (agua oxigenada) se incuba nuevamente a temperatura ambiente durante 15 minutos y finalmente se le añade la solución de frenado. El color que se desarrolla al momento, es proporcional a la cantidad de anticuerpo específico presente en la muestra de prueba, luego se procede a leer los resultados en el elisómetro a una densidad óptica de 405 nanómetros.

3.5.1.- Interpretación de la prueba:

Valor S/N mayor a 0.7 se considera negativo³

Valor S/N entre 0.6 y 0.7 se considera sospechoso³

Valor S/N menor o igual a 0.6 se considera positivo³

³→Investigaciones Aplicadas S.A de C.V.(2008).

3.6. - Calculo de la tasa de prevalencia:

La prevalencia se calculo por medio de la fórmula descrita por San Martín (1977) la cual indica que la tasa de prevalencia (T.P.) se obtiene de la división del total de los casos positivos, sobre la población total muestreada, multiplicada por 100.

$$\text{T.P.} = \frac{\text{No. Total de casos positivos}}{\text{No. total de población muestreada}} \times 100$$

IV. – RESULTADOS

En relación a los resultados obtenidos en la presente investigación no se detectó la presencia de anticuerpos contra la enfermedad de Aujeszky en cerdos de granjas tecnificadas registradas ante la SAGARPA del estado de Chiapas.

En lo referente a la prevalencia global estimada hacia esta enfermedad se observó que de un total de 3870 muestras séricas de 86 granjas tecnificadas correspondientes a 20 municipios del estado de Chiapas que fueron analizadas mediante la técnica de ELISA, ninguna de estas resultaron positivas, lo que representa el cero % de la prevalencia del total de la población muestreada. (Cuadro 2 y Figura 9).

Cuadro No.2 Tasa de prevalencia global de anticuerpos contra el VEA en granjas comerciales del estado de Chiapas.

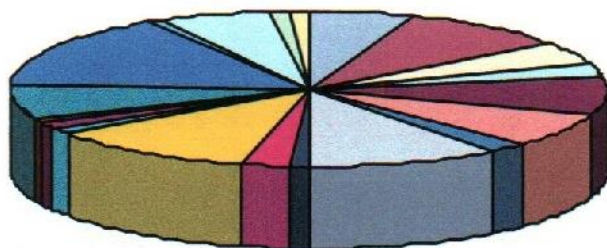
NÚMERO DE ANIMALES MUESTREADOS	NÚMERO DE ANIMALES POSITIVOS	TASA DE PREVALENCIA %
3870	0	0

Cuadro No.3 Prevalencia estimada de la enfermedad de Aujeszky en cerdos de granjas tecnificadas por municipio del estado de Chiapas.

MUNICIPIO	No. DE ANIMALES MUESTREADOS	No. DE CASOS POSITIVOS	PREVALENCIA %
BERRIOZABAL	225	0	0
CHIAPA DE CORZO	360	0	0
CINTALAPA	180	0	0
IXTAPA	90	0	0

OCOZOCOAUTLA	315	0	0
SAN FERNANDO	270	0	0
SUCHIAPA	90	0	0
TUXTLA GUTIERREZ	405	0	0
LA TRINITARIA	45	0	0
VILLACORZO	90	0	0
VILLAFLORES	450	0	0
LA CONCORDIA	45	0	0
CATAZAJA	45	0	0
CHILON	45	0	0
LA LIBERTAD	270	0	0
PALENQUE	585	0	0
ESCUINTLA	45	0	0
TAPACHULA	225	0	0
TUXTLA CHICO	45	0	0
OCOSINGO	45	0	0
TOTAL	3870	0	0

NÚMERO DE MUESTRAS POR MUNICIPIOS



■ BERRIOZABAL	225	■ CHIAPA DE CORZO	360
■ CINTALAPA	180	■ IXTAPA	90
■ OCOZOCOAUTLA	315	■ SAN FERNANDO	270
■ SUCHIAPA	90	■ TUXTLA GUTIERREZ	405
■ LA TRINITARIA	45	■ VILLACORZO	90
■ VILLAFLORES	450	■ LA CONCORDIA	45
■ CATAZAJA	45	■ CHILON	45
■ LA LIBERTAD	270	■ PALENQUE	585
■ ESCUINTLA	45	■ TAPACHULA	225
■ TUXTLA CHICO	45	■ OCOSINGO	45

Figura No. 9. Número de muestras por municipio para el diagnóstico de la enfermedad de Aujeszky en 86 granjas tecnificadas en el Estado de Chiapas.

De acuerdo a los resultados obtenidos, los costos de la presente investigación fue de \$ 241,243.00. Por otro lado el costo por muestra fue de \$62.33 (Anexo 2).

V.- DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos en la presente investigación en donde de un total de 3870 muestras analizadas, ninguna resultó positiva, lo cual arroja una prevalencia del cero %, no concuerda con los resultados obtenidos por Abarca (1997) quien encontró el 11.76% de prevalencia global, hacia esta enfermedad, en granjas tecnificadas del municipio de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. Lo anterior puede deberse a que los animales de granja están expuestos al agente debido a la similitud de las condiciones medioambientales que favorecen la presencia del virus, así como a la fecha de realización del muestreo que fue en los años anteriores donde no se tenía buen manejo en bioseguridad. Cabe mencionar que también por la exposición de vectores o animales silvestres que sean portadores sanos de la enfermedad. De igual manera Orantes (1997) en cerdos del municipio de Villaflores; Chiapas, no detectó la presencia de anticuerpos, debido a que en años actuales se han realizado campañas de bioseguridad en granjas tecnificadas, lo cual concuerda con la presente investigación. Por otra parte, al no detectarse la presencia de anticuerpos en ningún municipio estudiado puede deberse a que los productores cuentan con un buen manejo de la bioseguridad en sus granjas y al comprar reemplazos para las mismas, lo hacen en granjas que estén libres de esta enfermedad, comprobándose con ello con la constancia de granja negativa, las cuales son emitidas por SAGARPA, después de haber sido monitoreadas, contando esta con una vigencia de 6 meses, lo que es uno de los requisitos para la movilización dentro del estado de Chiapas, así ellos tienen un mejor control al adquirir sus semovientes porcinos.

Con respecto al virus de la enfermedad de Aujeszky, la prevalencia arrojada en el muestreo fue negativo. Lo que indica que pueda existir ausencias o prevalencias muy bajas, lo cual no difiere con lo encontrado por Milo (1997), "Comunicación personal", quien realizó estudios similares en Ocozocoautla y Villaflores, Chiapas, encontrándose seronegatividad en las dos investigaciones.

Además, cabe señalar que la prevalencia negativa detectada puede deberse a la efectividad de las normas de bioseguridad establecidas por la Campaña Nacional en contra de la Enfermedad de Aujeszky en el estado de Chiapas.

VI.- CONCLUSIONES

- 1.- Se detectó la ausencia de anticuerpos contra la enfermedad de Aujeszky en cerdos de 86 granjas tecnificadas en 20 municipios del estado de Chiapas.
- 2.- Se determinó una prevalencia global negativa.
- 3.- Se concluye que en el 100% de las granjas de los municipios estudiados no se detectó ningún reactor positivo.
- 4.- La detección de anticuerpos mediante la técnica de ELISA es fácil de realizar, además de ser una prueba bastante sensible y confiable, para este tipo de estudio.
- 5.- Se concluye que dentro del estado de Chiapas, existe la campaña en contra de esta enfermedad, la cual ha dado buenos resultados debido a que el Estado se encuentra actualmente en zona de erradicación y en las próximas semanas se dará la zona libre.
- 6.- Se rechaza la hipótesis de la investigación debido a que no se encontraron ningún animal reactor positivo.

VII.- LITERATURA CITADA

- 1.- Abarca, C.C., (1997), Estudio epizootológico de la enfermedad de Aujeszky en granjas tecnificadas en el municipio de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, Tesis profesional Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNACH, Chiapas, México.
- 2.- Albina, E.; Kobisch, M.; Cariolet, R.; Morvan, P.; Keranflec, A.; Beaurepaire, B.; Hetet, E.; and Labbr, A.; (1995). Porcine reproductive and respiratory syndrome: Influence of infection on the immune response and resistance to Aujeszky virus and *Mycoplasma hyopneumoniae* in growing piglets. 27-es journées de la recherche porcine en France. Paris, 31-janvier-2 fevrier. 27 :107-116.
- 3.- Aguilera, F.J.L., Ciprian, C.A., Cruz, S.T., Lara, P.J.H., Mendoza, E.S.E. (1996). Memorias del Congreso Nacional Mexicana de Veterinarios. Especialistas en Cerdos. Veracruz. México.
- 4.- Ambrogui, A. (1983), Enfermedad de Aujeszky en cerdos. Rio de Janeiro, Brasil 261 -267.
- 5.- Balderas, D. E., (1979), Frecuencia y distribución de la Enfermedad de Aujeszky en cerdos en la República Mexicana., México, D.F.
- 6.- Blood, D.C., Radostitis, O.M., Henderson, J.A., (1992), Medicina Veterinaria, 7a. Edición, Interamericana, México.
7. - Castro, A.C., Sthepano, H.A., Doporto, D.J.M., Rosales C., Bermúdez, R., Navarro, R., (1991), Descripción de un brote de la enfermedad de Aujeszky. Rev. Porcira. No. 8, Vol. 11, Editorial P.D.P.S.A., México, D.F., 6-15.

- 8.- Castro, A.C.; (1997). Taller sobre la situación actual y avances de la campaña nacional contra la enfermedad de Aujeszky. Acapulco, Guerrero, México.
- 9.- Connor, J.F.; (1991). Aujeszky's disease elimination programs. First international symposium. The eradication of pseudorabies, University Minnesota, U.S.A.
- 10.- Correa, G.P., (1991), Características del virus del cólera porcino y su diseminación, Revista Síntesis Porcina, Vol. 10., año 2, De. año dos mil, S.A. México, D.F.
- 11.- Daniel, W. W.; (1990), Bioestadística, Editorial LIMUSA, México, pp.667.
- 12.- De Smet, K.; De Muelenaere, C. and Pensaert, M.; (1990). Epizootiological situation and future combato f Aujeszky's disease in Belgium and the European community member states: Tierärztl. Umschau. 45:596-608
- 13.- Dunnee, H.W., (1967), Enfermedades de los cerdos, editorial UTHEA, México.
- 14.- García, R.O., y Lobo, M.G., (1989), Enfermedades de los cerdos, 1a. edición, Editorial Trillas, México, D.F.
- 15.- Gómez-Tejedor, O., (1992), Características generales, Sintomatología y Patología de la enfermedad de Aujeszky. Tratado de ganado porcino. Madrid, España, 11-20.
- 16.- Gustafson, D.P., (1986), Pseudorabies in diseases of swine. Fifth edition, Edited by Leman. A.; Glock, W.L.; Mengeling, R.H.; Penny, E., The Iowa State University Press, Iowa. U.S.A.

17. - Iglesias, S.G.; Pijoan, C. And Molitor, T.; (1989). Interactions of Pseudorabies virus with swine alveolar macrophages: Effects of virus infection on cell functions. *J. Leukocyte Biol.*, 45:410-415.
- 18.- Iglesias, S.G., (1996). Situación epidemiológica del virus de la enfermedad de Aujeszky en la región Centro-Occidente del país. Memorias del XXXI Congreso Nacional de la AMVEC, Veracruz, Ver., México.
- 19.- INEGI, (1991), Los municipios de Chiapas, México.
- 20.- Investigaciones Aplicadas S.A de C.V (2008).
- 21.- Kluge, J.P.; Beran, C.W.; Hill, H.T.; Platt, K.B.; (1992) Pseudorabies (Aujeszky's Disease). Ames, Iowa, Iowa State University Press; 312-323.
- 22.- Leontides, L.; Ewald, C.; Mortensen, S.; Willeberg, P.; (1994) Factor Associated with circulation of Aujeszky's disease virus in fattening herds of an intensively vaccinated area of Northern Germany. *Prev Vet. Med.* 20:63-78.
- 23.- Macromedia, inc., (2009) Laboratorios IDEXX.
- 24.- Manual de actualización técnica para aprobación de M.V.Z. en campañas zoonosanitarias para cerdos (1998).
- 25.- Maes, R. K., (1991), Pseudorabies virus latency. PRRS International Symposium. The eradication of pseudorabies virus. University Minnesota, U.S.A.
- 26.- Mandujano, M. M. A., (1998), Determinación de la seroprevalencia a la Enfermedad de Aujeszky en cerdos de traspatio del municipio de Suchiapa, Chiapas, Tesis Profesional, Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNACH, Chiapas, México.

- 27.- Maqueda, A.J., (1984). Características clínicas de la enfermedad de Aujeszky. Memorias del simposium sobre el análisis y perspectivas de control de la Enfermedad de Aujeszky en México.31 -40.
- 28- Martell, M. R., (1972), Pasado, presente y futuro de la enfermedad de Aujeszky en México. Rev. Porcira. 61:6-10.
- 29.- Merck, (1988), El manual Merck de Veterinaria, 3a. edición, Editorial Centrum, Madrid, España.
- 30.- Morilla, A.; Doisdado, F.; Castro, D.A.; González Vega, D.; Rosales, C.; Calderón, A. y Corona, E., (1997). Avances en la Investigación de la Enfermedad de Aujeszky en México. Memorias del XXXII Congreso Nacional AMVEC, Ixtapa Zihuatanejo, Guerrero, México.
31. - Morrison, R.B., (1992). Control of pseudorabies (Aujeszky's disease) virus. In: Diseases of Swine (Lehman, A.D.; Straw, B.E.; Mengeling, W.L.; D'Allaire. S. And Taylor, D.J., eds.). Ames, Iowa. Iowa State University Press; 872-883.
- 32.- Neundorf, R., Seidel, R., (1974), Enfermedades del cerdo, Etiología, Patogenia, Signos Clínicos, Tratamiento y Profilaxis, 1a. edición, Editorial ACRIBIA. Zaragoza, España.
- 33.- Orantes, M. J. L., (1997), Estudio serológico para la detección de anticuerpos contra la enfermedad de Aujeszky y Fiebre Porcina Clásica, en la región noroeste del municipio de Villaflores, Chiapas, Tesis profesional, Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNACH, Chiapas, México.

- 34.- Pastoret, P.P., Nauwynck, H., Desmient, K, (1982), Pathogenesis of pseudorabies virus (PRV) Infection in swine white reference to control and eradication, First international symposium. The eradication of Pseudorabies virus. University Minnesota. USA.
- 35 .- Pensaert, P.P., Thiry, E., Brochier, B., Derboven, G., (1991), Pathogenesis, latencia, consequences of latency, Anim. J. Vet. Res. 13:221
- 36 .- Robles, C., (1990), Formación de una granja experimental de cerdos S.P.F. para estudios relacionados con la enfermedad de Aujeszky. Rev. Porcira 160.
- 37.- Ramírez, N.R., Reynoso, G.M.L., (1995), Manual de actualización técnica para la aprobación de Médicos Veterinarios en control y erradicación de la enfermedad de Aujeszky, México, D.F.
- 38.- San Martín., (1977), Salud y enfermedad, 3a. edición, Editorial La Prensa Mexicana, México, D.F.
- 39.- Santillán, S.S., (1985), La enfermedad de Aujeszky, Rev. Síntesis Porcina, No. 11, Vol. 4, Editorial año dos mil, SA. México, D.F. 44-49.
40. - Taylor.D.J. (1983), Pig disease, 3a. Edition, the Burlington press. Cambridge, Great Britain. 77-80.
41. - Thawley, D.G. and Torrison, J., (1990). The Epidemiology of Pseudorabies. A Field Guide. A Publication of the Livestock Conservation Institute, Madison, Wisconsin, USA. 3-19.
- 42.- Tizard, I.R., (1983), inmunología Veterinaria, 2a. edición, Editorial Interamericana, México.

43.- Vannier, P. (1995). Pseudorabies (Aujeszky's disease) and the respiratory problems. *Pigs Misset*, Sept. 95:10-11.

44.- White, A.K.; Ciacci-Zenella, J.; Ele, S. and Osorio, F.A.; (1996). Comparison of the sensitivities of serologic test to detect pseudorabies-infected pigs during the latent phase of infection. *Anim. J. Vet. Res.*, 57:5, 608-611.

ANEXO No. 1
HOJA DE CAMPO PARA EL DIAGNOSTICO DE LA
ENFERMEDAD DE AUJESZKY

FECHA: _____

NOMBRE DE LA GRANJA: _____

UBICACIÓN: _____

MUNICIPIO: _____

PROPIETARIO: _____

DATOS DEL MONITOREO

No.	EDAD	SEXO	RAZA	FUNCION ZOOTECNICA	IDENTIFICACION	No.	EDAD	SEXO	RAZA	FUNCION ZOOTECNICA	IDENTIFICACION
1						26					
2						27					
3						28					
4						29					
5						30					
6						31					
7						32					
8						33					
9						34					
10						35					
11						36					
12						37					
13						38					
14						39					
15						40					
16						41					
17						42					
18						43					
19						44					
20						45					
21						46					
22						47					
23						48					
24						49					
25						50					

OBSERVACIONES: _____

ANEXO No. 2

El costo total de la presente investigación fue el siguiente: **\$ 241,243.00**

El costo por muestra es de $\$ 241,243.00 \div 3870$ muestras totales = **\$ 62.33**

Por concepto de:

TUBOS VACUTAINER: $\$ 2.12 \times 4000$ piezas = \$ 8, 480.00

AGUJAS VACUTAINER: $\$ 1.89 \times 4000$ piezas = \$ 7, 560.00

CINTA PARAFILM: \$ 512.00

VIALES: $\$ 0.94 \times 4000$ piezas = \$ 3, 760.00

COSTO DE LA MUESTRA PARA DIAGNOSTICO PARA LA ENFERMEDAD DE AUJESZKY: $\$ 45.00 \times 3870$ muestras = \$ 174,150.00

ENVIO AL LABORATORIO: $\$ 340.00 \times 6$ envíos = \$ 2, 040.00

HIELERAS PARA ENVIO: $\$ 50.00 \times 6$ hieleras = \$ 300.00

TOTAL \$196,802.00

También se consideraron los gastos de operatividad, tales como:

Viáticos: \$ 12,500.00

Combustible: \$ 31,941.00

TOTAL: \$ 44,441.00