

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA**

**E.A.P. DE MEDICINA VETERINARIA**

**“ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS DEL  
SINDROME REPRODUCTIVO Y RESPIRATORIO  
PORCINO Y LA FRECUENCIA DE PROBLEMAS  
RESPIRATORIOS EN PORCINOS DE UNA GRANJA  
TECNIFICADA EN ETAPAS DE RECRÍA Y  
ACABADO”**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

**AUTOR**

Juan Fernando Calcina Isique

**ASESOR**

Hermelinda Rivera Gerónimo

**Lima – Perú**

**2011**

A mi familia:

Mi padre Fernando, mi madre Otilia y mis tres queridas hermanas, Sin ellos y su apoyo incondicional no seria posible culminar esta etapa

A mis amigos de universidad:

Sus gratas experiencias académicas y no académicas me han ayudado a ser la persona que soy ahora

A la Dra. Hermelinda Rivera:

Mi mentora, a quien le agradezco toda la paciencia y apoyo para poder llevar a cabo este trabajo.

## INDICE

INDICE.....	iii
RESUMEN.....	v
ABSTRACT .....	vi
LISTA DE CUADROS.....	vii
LISTA DE FIGURAS .....	viii
LISTA DE ANEXOS .....	ix
I. INTRODUCCION .....	1
II. REVISION BIBLIOGRÁFICA .....	3
2.1 Definición e Historia de la Enfermedad .....	3
2.2 Etiología .....	4
2.2.1 Clasificación Taxonómica.....	4
2.2.2 Características Físicoquímicas .....	4
2.2.3 Tamaño y Morfología.....	4
2.2.4 Organización Genómica .....	5
2.2.5 Proteínas Virales.....	5
2.2.6 Variabilidad .....	6
2.2.7 Crecimiento en Cultivos Celulares.....	7
2.2.8 Replicación Viral.....	7
2.3 Características Epidemiológicas.....	8
2.3.1 Distribución Geográfica .....	8
2.3.2 Transmisión .....	9
2.3.2.1 Vías de Transmisión.....	9
2.3.2.2 Formas de Transmisión .....	9
2.3.2.3 Transmisión Entre Granjas .....	10
2.3.2.4 Transmisión Dentro de Granjas.....	10
2.3.3 Periodo de Incubación .....	11
2.3.4 Vías de Eliminación .....	11
2.3.5 Factores de Riesgo.....	11
2.4 Patogenia .....	12
2.5 Sintomatología .....	13
2.5.1 Verracos .....	13
2.5.2 Marranas .....	14
2.5.3 Cerdos de Crecimiento y Engorde.....	14
2.6 Lesiones.....	15

2.7	Respuesta Inmunológica.....	15
2.7.1	Respuesta Innata Frente al PRRSV .....	15
2.7.2	Respuesta Adquirida Frente al PRRSV .....	16
2.7.2.1	Respuesta Humoral.....	16
2.7.2.2	Respuesta Celular .....	17
2.8	Diagnóstico.....	18
2.8.1	Diagnóstico Clínico.....	18
2.8.2	Diagnóstico Anátomo Patológico.....	18
2.8.3	Pruebas de Detección Viral .....	19
2.8.4	Detección de Antígeno Viral .....	19
2.8.5	Detección de Material Genómico Viral.....	20
2.8.6	Detección de Anticuerpos .....	21
2.9	Prevención y Control.....	21
III.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	23
3.1	Lugar de Estudio .....	23
3.2	Descripción de la Granja .....	23
3.2.1	Manejo de la Granja .....	23
3.2.2	Antecedentes Sanitarios .....	23
3.3	Materiales.....	24
3.3.1	Animales.....	24
3.3.2	Equipos.....	24
3.3.3	Reactivos .....	24
3.4	Metodología .....	25
3.4.1	Obtención de Muestras.....	25
3.4.2	Observación de los Animales Durante el Estudio .....	25
3.4.3	Detección de Anticuerpos Contra PRRSV .....	25
3.5	Análisis de Datos.....	26
3.5.1	Frecuencia .....	26
3.5.2	Pruebas Estadísticas .....	27
IV.	RESULTADOS .....	28
V.	DISCUSIÓN.....	32
VI.	CONCLUSIONES .....	36
VII.	LITERATURA CITADA.....	37
VIII.	ANEXOS.....	51

## RESUMEN

El síndrome reproductivo y respiratorio porcino es una enfermedad caracterizada por problemas respiratorios en cerdos de gran importancia económica. El objetivo del presente estudio fue determinar anticuerpos contra el virus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino (VPRRS) y asociarlos con problemas respiratorios en un lote de animales de una granja porcina tecnificada de Lima. Se colectó muestras de suero de 30 cerdos de un lote de 200 animales en tres periodos consecutivos a los 32, 61 y 136 días de edad para la determinación de anticuerpos contra el VPRRS mediante la prueba de ELISA indirecta. El lote en estudio fue observado diariamente en busca de problemas respiratorios. El 26.7% (8/30) de las muestras a los 32 días de edad tuvieron anticuerpos contra el VPRRS con coeficientes muestra sobre positivo (M/P) entre 0.4 a 1.6, las muestras a los 61 días solo un animal tuvo anticuerpos contra el VPRRS mientras que a los 136 días de edad el 96.7% (29/30) de los animales presentaron anticuerpos contra el VPRRS. Durante el periodo de observación *in situ* de los animales del lote no se observó signos respiratorios. Hubo asociación ( $P \leq 0.05$ ) entre que la presencia de anticuerpos y edad de los animales.

**Palabras Claves:** PRRSV, ELISA, problemas respiratorios, granja porcina tecnificada.

## ABSTRACT

Porcine reproductive and respiratory syndrome is a great important economic disease characterized by respiratory problems in pigs. The aim of this study was detect antibodies against porcine reproductive and respiratory virus (PRRSV) and associated them by respiratory problems in a batch from tech pig farm in Lima. Serum samples were collected from 30 pigs in a batch of 200 pigs in three consecutive stages at 32, 61 and 136 days old to determine antibody against PRRSV by indirect ELISA test. The Batch studied was daily followed to find respiratory problems. 26.7% (8/30) of samples had antibody anti PRRSV at 32 days old with samples-on-positive coefficient (M/P) among 0.4 to 1.6, at 61 day old only one pig had PRRSV antibodies while the 96.7% (29/30) had antibody against PRRSV at 136 days old. There were no observed respiratory problems *in situ* in the batch studied in the whole period of observation. The age of animals and anti PRRSV antibodies was associated ( $P \leq 0.05$ ).

**Keywords:** PRRSV, ELISA, respiratory problems, pig tech farm.

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Frecuencia de animales seropositivos al Virus de Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino durante las tres etapas de muestreos .....	29
Cuadro 2. Distribución de los coeficientes muestra sobre positivo (M/P) de las muestras de anticuerpos contra el Virus de Síndrome reproductivo y Respiratorio Porcino durante las tres etapas de muestreo .....	29
Cuadro 3. Resultados del análisis de varianza para evaluar los coeficientes muestra sobre positivo (M/P) de anticuerpos contra PRRS en cerdos durante las fases de recría, crecimiento y acabado .....	30
Cuadro 4. Análisis de varianza para evaluar el contraste cuadrático de la tendencia de la densidad óptica del título de anticuerpos .....	31
Cuadro 5. Elaboración del modelo lineal mixto para determinar el efecto de la edad de los animales sobre los niveles de densidad óptica de anticuerpos contra el VPRRS.....	31

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de coeficientes M/P de las muestras positivas a anticuerpos contra el Virus de Síndrome reproductivo y Respiratorio Porcino durante las tres etapas de muestreo .....	30
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----



## LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Densidades ópticas de anticuerpos obtenidas mediante la prueba de ELISA en las tres etapas de muestreo .....	52
Anexo 2. Distribución de coeficientes M/P obtenidas mediante la prueba de ELISA en las tres etapas de muestreo .....	53
Anexo 3. Animales seropositivos mediante la prueba de ELISA en las tres etapas de muestreo .....	54

## I. INTRODUCCIÓN

Se estima que la población porcina en el Perú es de 4'693,506 animales (FAO, 2008). El tipo de crianza preponderante es la crianza de traspatio y familiar, este tipo de crianza representa en números de animales un bajo porcentaje comparada con el número de animales criados en granjas intensivas (Trelles, 2006; Arce *et al.*, 2007), quienes son los principales abastecedores de carne porcina al mercado (Kalinowski, 2000; Trelles, 2006).

El potencial de producción de carne porcina es alentador ya que en los últimos años el volumen de producción ha aumentado de 70 mil TM en 1998 a 114 mil TM el 2009 (MINAG, 2010) y a pesar del aumento de consumo per cápita de 3 a 4 kilos/ habitante/año, aun sigue siendo bajo con respecto a otros tipos de carne comercializada en Perú (Trelles, 2006).

Diversos factores afectan la producción porcina tecnificada entre ellas las enfermedades infecciosas que perjudican no solo elevando el costo de producción sino también limitando el potencial de exportación. Una de estas enfermedades es el Síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRS) que ocasiona graves pérdidas económicas a la industria porcina debidos al alto costo de tratamiento, prevención y control con gastos de 560 millones de dólares en Estados Unidos y 280 millones de dólares en Japón (Neuman *et al.*, 2005; Yamane *et al.*, 2009).

En el Perú el PRRS ha sido reportado serológicamente mediante estudios en campo que han logrado evidenciar la presencia del síndrome en granjas porcinas tecnificadas (Alegria *et al.*, 1998). En el 2007 el SENASA realizó un muestreo serológico para identificar factores de riesgo asociados al PRRS y otras enfermedades, estudio que aun no ha documentado conclusiones. En el 2010 salió un decreto supremo sobre el programa sanitario porcino el cual da pautas para el control de las enfermedades infecciosas del porcino entre ellas el PRRS (Portal

web SENASA, 2009).

El presente estudio tiene como objetivo determinar anticuerpos contra el virus del PRRS y su asociación con problemas respiratorios en un lote de animales de una granja porcina tecnificada durante las tres fases de recría, engorde y acabado.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Definición e historia de la enfermedad:

El síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRS por sus siglas en inglés) es una enfermedad causada por el virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRSV) caracterizada por defectos en la producción de cerdos y problemas respiratorios en lechones y cerdos en etapas posteriores de crecimiento (OIE, 2004).

Inicialmente el PRRS fue reportado en carolina del Norte extendiéndose años posteriores por los Estados Unidos y Canadá (Hill, 1990). A finales de 1990 fue reportada en Alemania después de la cual se extendió rápidamente por Europa Occidental (Wensvoort, 1993; Ohlinger *et al.*, 2000). En Asia fue reportada en Taiwán en 1991 (Chang *et al.*, 1993) y en Japón en 1992 (Kuwahara *et al.*, 1994).

A lo largo de su presentación dicho agente fue tomando diversos nombres como Enfermedad misteriosa del cerdo, síndrome disgenésico y respiratorio del cerdo, SIRS (Swine infertility and respiratory síndrome), PEARS (porcine epidemic abortion and respiratory síndrome), enfermedad de Heko heko, entre otros (Zimmerman, 2003).

Esta enfermedad se difundió por todo el mundo haciéndose endémica en la mayoría de países de producción intensiva de cerdos en el mundo (Osorio, 2010), actualmente es una enfermedad de gran importancia económica en estos países debido a las marcadas pérdidas económicas ocasionadas. En el 2004 Estados Unidos estimó una pérdida anual ocasionada por el PRRS de 560 millones de dólares, dichos gastos resultaron ser mayores a otras enfermedades como la peste porcina clásica y la pseudorabia (Neumann *et al.*, 2005);

en Japón se estiman pérdidas anuales de 280 millones de dólares (Yamane *et al.*, 2009).

## **2.2. Etiología**

### **2.2.1. Clasificación del PRRS**

El virus del PRRS (PRRSV) está clasificado dentro del género *arterivirus* familia Arteriviridae orden Nidovirales. En el género *arterivirus* están incluidos también el virus elevador de la lactato deshidrogenasa del ratón (VELD), el virus de la fiebre hemorrágica del simio (VFHS) y el virus de la arteritis viral equina (AVE) (Snijer y Meulenberg, 1998).

Estos virus comparten características comunes como la infección en un anfitrión inicial en macrófagos y la presencia de una infección inicial asintomática, sin embargo no muestran una reacción cruzada entre el virus del PRRS y otros arterivirus (Yoon, 2002). El PRRSV es clasificado en dos genotipos: El genotipo I (genotipo europeo) y el genotipo II (genotipo norteamericano) y comparten el 60% de homología en su secuencia genómica (Hanada *et al.*, 2005).

### **2.2.2. Características Físicoquímicas**

El PRRSV posee una densidad boyante de 1.18 – 1.20 g/ml en cloruro de cesio y en gradientes de glicerol-tartrato (Benfield *et al.*, 1992; Mardassi *et al.*, 1994). Es estable a valores de pH entre 5.5 y 6.5, un incremento o caída del pH disminuye su vida media (Bloemraad *et al.*, 1994).

La estabilidad del virus se ve afectada por los cambios en temperatura (Jacobs *et al.*, 2010), se ha aislado en porcentajes es al 85% a 72h de su colección en tejidos y suero cuando es conservado a temperaturas de refrigeración (4° C) o congelándose a -20° C (Van Alstine *et al.*, 1993). Asimismo mantiene su infectividad por meses al ser incubada a temperaturas de 4°C a -70°C, (Benfield *et al.*, 1992; Bloemraad *et al.*, 1994). Los aumentos de temperatura o exposición a altas temperaturas por tiempo prolongado (temperaturas mayores a 37 °C) logran inactivar al virus (Dee *et al.*, 2005; Hermann *et al.*, 2007).

Una variedad de desinfectantes mostraron reducir la infectividad del virus *in vitro*, tratamientos con cloroformo redujeron la infectividad viral en un 99.99% (Benfield *et al.*, 1992), Compuestos de amonio cuaternario, amonio cuaternario, yodo y cloro fueron eficaces para la inactivación del virus, (Shirai *et al.*, 2000; Dee *et al.*, 2005).

### **2.2.3. Tamaño y Morfología:**

El PRRSV tiene una forma esférica con envoltura de 45 a 65 nm de diámetro y una nucleocápside de simetría icosaédrica de unos 25 a 30 nm de diámetro (Benfield *et al.*, 1992).

#### **2.2.4. Organización Genómica:**

El virus del PRRS posee un genoma compuesto de una molécula de ácido ribonucleico (ARN) de cadena simple y polaridad positiva de una longitud de 15 Kb. Presenta nueve marcos de lectura abiertos (ORF's): ORF 1a -1b, ORF 2a-2b, ORF 3, ORF 4, ORF 5, ORF 6 y ORF 7, y son identificados por sus productos (Flores y Hernandez, 2010).

El ORF 1a – 1b se inicia en el extremo 5' y es precedido por una secuencia líder no codificada de unos 189 a 220 nucleótidos y ocupa aproximadamente en 80% de la longitud de la cadena, los ORF 2-7 están ubicados en la región 3'. La parte final del ORF 7 es seguida de una secuencia no codificada de unos 114 a 150 nucleótidos de longitud y luego una cola poli adenilada de 20 nucleótidos de longitud. Cada uno de los ORF (1-7) es traslapado por su ORF vecino (Murtaugh *et al.*, 1995; Snijder y Meulenberg, 1998; Wu *et al.*, 2001).

#### **2.2.5. Proteínas Virales:**

El virus está compuesto por siete proteínas: una pequeña proteína de envoltura E, la proteína de membrana M, las proteínas N-glicosiladas GP2a, GP3, GP4, GP5 y la proteína de la nucleocapside N. Las proteínas M, N y GP5 son las proteínas estructurales mayores del PRRSV mientras que las proteínas E, GP2a, GP3 y GP4 son proteínas menores del virus (Meulenberg, 2000; Wu *et al.*, 2001).

La ARN polimerasa vírica y otras proteínas implicadas en la expresión genómica y replicación son codificadas por los ORF 1a – 1b, siendo los únicos ORFs que codifican proteínas no estructurales (Conzelman *et al.*, 1993, Meulenberg *et al.*, 1994).

Las proteínas GP2a, GP3, GP4 y GP5 son glicosiladas y están asociadas a la membrana siendo codificadas por los ORF'S 2a, 3, 4, 5; el número de la glicoproteína indica el ORF de origen (Meulemberg, 2000; Wu *et al.*, 2001).

La proteína GP2a posee dos sitios de N-glicosidación importantes para la producción viral en las variantes europeas del virus (Wissink *et al.*, 2004), interacciona con el receptor celular CD163 importante en la formación de endosomal para el ingreso del virus a la célula hospedadora (Das *et al.*, 2010).

La proteína GP3 posee siete sitios de N-glicosidación siendo la más glicosilada, (Meulemberg, 2000), la secuencia de codificación de esta proteína es muy variable entre las diferentes variantes del virus principalmente en la región amino terminal (Murtaugh *et al.*, 1995). Aunque no estaba clara su presencia como componente estructural en variantes

norteamericanas, recientes estudios han demostrado su presencia en la envoltura viral de dicha variante, similar a lo observado en las variantes europeas (de Lima *et al.*, 2009).

La proteína GP4 posee cuatro sitios de N-glicosidación encontrando anticuerpos neutralizantes contra esta proteína, sin embargo los epitopes neutralizantes son variables entre las diferentes variantes del virus. Al igual que la proteína GP2 también interacciona con el receptor celular CD163 para el ingreso del virus en la célula hospedadora (Das *et al.*, 2010; Dea *et al.*, 2000).

La proteína E de unos 10 KDa, codificada por ORF 2b; es un componente integral del virión (Snijder y Meulenberg, 1998; Wu *et al.*, 2005) y posee una función de entrada de iones importantes para el desmontaje de la capsida y la liberación del virus en el citoplasma (Lee y Yoo, 2006)

La proteína M de unos 19 KDa es codificada por el ORF 6 (Kimman *et al.*, 2009; Dea *et al.*, 2000). En la membrana está asociada a la proteína GP5 formando heterodímeros los cuales cumplen una función importante en el mecanismo de adhesión y entrada a la célula hospedadora (Delputte *et al.*, 2002; Vanderheijden *et al.*, 2003).

La proteína de la nucleocápsida (N) codificada por el ORF 7 de unos 15 KDa, está localizada en gran abundancia en las células infectadas encontrándose en el citoplasma y núcleo (Snijder y Meulenberg, 1998; Lee y Yoo, 2006), es altamente inmunogénica pero no genera anticuerpos neutralizantes (Kimman *et al.*, 2009). Esta proteína promueve el ensamblaje del virus en el citoplasma, no estando clara su función en el núcleo de las células infectadas (Lee y Yoo, 2006).

#### **2.2.6. Variabilidad:**

Las variantes Americana y Europea muestran diferencias tanto biológicas como genéticas (Murtaugh *et al.*, 2010), los tipos 1 y 2 del PRRSV comparten solo el 55 - 70% de nucleótidos y un 50 - 80% de semejanza de aminoácidos en varios de sus genes (Fosberg, 2005). Las secuencias de aminoácidos para la variante americana comparada con la variante europea es de 76% (ORF-2), 72% (ORF-3), 80% (ORF4-5), 91% (ORF-6) y 74% (ORF-7) respectivamente (Cho y Dee, 2006).

A pesar de sus apariciones en tiempos similares en ambos continentes con una presentación clínica de la enfermedad de características similares, los análisis filogenéticos demuestran una divergencia evolutiva grande que apoya las teorías que los tipos 1 y 2 del

PRRSV divergieron antes de su aparición clínica (Fosberg, 2005; Hanada *et al.*, 2005; Murtaugh *et al.*, 2010).

Estudios reportan que existe mayor diversidad genética entre las variantes norteamericanas en comparación con las variantes europeas (Shi *et al.*, 2010), y que estas tienden a formar cepas más virulentas de forma más rápida (Murtaugh *et al.*, 2010). La proteína codificada por la ORF-5 es la proteína con mayor variabilidad entre las variantes europea y norteamericana e incluso dentro de cada variante debido probablemente a la alta presión de selección inmunológica al ser una proteína situada en la membrana; al contrario la proteína codificada por la ORF-7 es altamente conservada entre las variantes americana y europea (Murtaugh *et al.*, 2010).

### **2.2.7. Crecimiento en Cultivos Celulares:**

Pruebas *in vivo* y cultivadas *in vitro* determinan que el virus logra replicarse en líneas celulares monocito/macrófago, monocitos de sangre periférica, macrófagos esplénicos, macrófagos perivascular pulmonar porcino y células gliales (Chung *et al.*, 1995; Christianson y Joo, 1994; Meng *et al.*, 1996b; Rossow *et al.*, 1996; Molitor *et al.*, 1997); sin embargo el virus muestra mayor predilección por los macrófagos alveolares porcinos (MAP) (Mendeling *et al.*, 1995). *In vitro* el virus ha logrado replicarse en dos subpoblaciones de células MA-104 (células de riñón de mono) conocidos como CI-2621 y MARC-145 (Bautista *et al.*, 1993; Kim *et al.*, 1993), siendo la variante americana la que mejor se adapta al aislamiento en este cultivo celular (OIE, 2004; Murtaugh *et al.*, 2010).

Células dendríticas derivadas de monocitos o células dendríticas extraídas de médula ósea han sido demostradas ser susceptibles al virus, sin embargo no se ha demostrado del todo su infección en células dendríticas primarias (Van Breedam *et al.*, 2010). Otras células derivadas del cerdo como células testiculares, pulmonares, linfocíticas, sinoviales y células fetales de riñón porcino no mostraron ser efectivas para la replicación del virus (Meng *et al.*, 1996a).

### **2.2.8. Replicación Viral:**

El ingreso del virus a la célula es mediante endocitosis mediada por receptor, gracias a la interacción de ligandos múltiples con sus receptores específicos (Duan *et al.*, 1998; Nauwynck *et al.*, 1999). El contacto inicial con macrófagos participan las moléculas de sulfato de heparan presentes en la superficie de la célula (Dellpute *et al.*, 2002), moléculas de sialoadhesina interaccionan ligándose con complejo proteico formado por las proteínas M/GP5 del virus, proceso en el cual está implicada el ácido siálico presente en el virus (Vanderheijden



*et al.*, 2003; Delputte y Naurwynck, 2004). Tras esta interacción, el virus ingresa a las células en endosomas en un proceso dependiente de clatrina, la liberación del genoma viral se logra mediante la acidificación del endosoma y del receptor CD163 en una interacción con las proteínas virales GP2 y GP4 (Naurwynck *et al.*, 1999; Vanderheijden *et al.*, 2003; Das *et al.*, 2010; Van Breedam *et al.*, 2010).

Una vez es liberado el genoma al citoplasma, el proceso de replicación libera según la cepa 6 o 7 ARNm que codifican las proteínas estructurales y la polimerasa vírica (Conzelman *et al.*, 1993; Meng *et al.*, 1996a; Meulenberg *et al.*, 1993). Los antígenos pueden ser localizados en el citoplasma de la célula infectada desde las 6 horas post infección (hpi), las proteínas E y M pueden ser localizadas en el área perinuclear, mientras que la proteína N se localiza en toda el área del citoplasma de la célula, así como en el núcleo cuya función pueda ser la de suprimir e inhibir la síntesis de proteínas del hospedero como es observada para otros virus (Snijder y Meulenberg, 1998; Suarez, 2000; Lee y Yoo, 2006).

La proteína M es acumulada en el retículo endoplasmático (RE) y la proteína E es transportada en el compartimiento golgi premedial una vez en esa localización dichas proteínas forman heterodímeros que son incorporados en los viriones, el ensamblaje del virus es completada por la incorporación de la proteína N que es acumulada en el citosol, las vesículas que contienen la envoltura y nucleocápside son llevados al RE y golgi premedial donde ocurre el cierre y el virus es liberado por exocitosis o lisis celular, la replicación de virus es muy rápida encontrándose las primeras partículas víricas ensambladas a las 9 horas post infección (hpi) liberándose la progenie entre las 9 y 12 hpi (Suarez, 2000; Lee y Yoo, 2006).

### **2.3. Características Epidemiológicas:**

#### **2.3.1. Distribución Geográfica:**

El PRRS es una enfermedad de distribución mundial, Países europeos como Francia, Alemania, España y asiáticos como Japón, China, los Estados Unidos y Canadá reportan enfermedad clínica. Los últimos brotes se han reportado en Suecia (2008), Sudáfrica (2005-2007), Rusia, Vietnam (2007) y China (2007) (Beltran-Alcrudo *et al.*, 2007; Osorio, 2010).

En países de Centroamérica y el Caribe como Cuba y El Salvador no se reportan la enfermedad; en México se reporta la presencia de animales positivos a esta enfermedad; en Sudamérica se evidencia la presencia de dicha enfermedad en países como Venezuela,

Colombia, Bolivia (Sierra *et al.*, 2000; Alfonso y Frias-Lepoureau, 2003; Cruz *et al.*, 2006; Beltran-Alcrudo *et al.*, 2007).

La FAO (2007) reporta solo a Australia, Nueva Zelanda y Suiza como países libres de la enfermedad. En Sudamérica Chile, Argentina y Brasil son países libres de la enfermedad (Perfumo y Sanguinetti, 2003; Ciacci-Zanella *et al.*, 2004; Beltran-Alcrudo *et al.*, 2007; Rojas, 2010).

En el Perú, Alegria *et al.*, (1998) encontraron granjas seropositivas al PRRS en el valle de Lima, mientras que Vidal *et al.*, (1999) demostró la presencia del virus del PRRS en muestras de pulmones neumónicos procedentes de granjas tecnificadas. En el 2007 el SENASA realizó como parte del proyecto de sanidad porcina un muestreo con la finalidad de obtener información sobre los factores de riesgo de presentación de la peste porcina clásica, la enfermedad de Aujeszky o PRRS estimando los indicadores para la presentación de dichas enfermedades, sin embargo aun no se han publicado datos concluyentes.

### **2.3.2. Transmisión:**

#### **2.3.2.1. Vías de Transmisión**

Los cerdos son susceptibles a la transmisión por las vías oronasal, intramuscular, intravenosa, intraperitoneal vaginal e intrauterina (Magar *et al.*, 1995; Lager y Mendeling, 1995; Zimmerman 2002; Molina *et al.*, 2008; Magar y Larochelle, 2004).

#### **2.3.2.2. Formas de Transmisión**

La principal forma de transmisión es por contacto directo entre animales infectados y susceptibles; probablemente sea por contacto oronasal o la contaminación de heridas generadas a través de las luchas entre animales con el virus (Wills *et al.*, 1997a; Otake *et al.*, 2002a).

También puede transmitirse a través del ingreso de vehículos contaminados; mediante procedimientos rutinarios como uso de agujas, en cortes de cola y descolmillado. Los manejadores pueden transmitir también el virus mediante manos, botas o ropa contaminada; así también vectores mecánicos como moscas y mosquitos han demostrado transmitir la enfermedad. (Otake *et al.*, 2002b; Pitkin *et al.*, 2009a; Pitkin *et al.*, 2009b).

Se ha demostrado que el pato mallard podría actuar como vector biológico al ser infectado mediante el agua contaminada logró diseminar el virus hasta 39 días post infección y sus heces lograron infectar a cerdos susceptibles (Zimmerman *et al.*, 1997). También han sido

estudiados los mosquitos (*Aedes vexans*) no encontrándose un papel de estos como vectores biológicos (Otake *et al.*, 2002b).

La transmisión del virus vía aerógena se ha demostrado en distancias cortas (Wills *et al.*, 1997a), siendo poco probable a la transmisión en largas distancias por su vulnerabilidad a las temperaturas ambientales (Hermann *et al.*, 2007); sin embargo estudios recientes dan la posibilidad de transmisión a distancias de 4.7 Km (Dee *et al.*, 2009).

La transmisión vertical es vía transplacentaria en donde la madre infectada transmite el virus el cual atraviesa la placenta produciendo muerte fetal en el último tercio de la gestación o produciendo animales portadores los cuales constituyen una fuente de excreción del virus a otros animales susceptibles (Christianson *et al.*, 1993; Kranger *et al.*, 1998; Lager *et al.*, 1995).

### **2.3.2.3. Transmisión Entre Granjas**

La transmisión entre granjas se ha demostrado mucho tiempo después del ingreso de una infección a estas, puede ocurrir en ausencia de contacto entre animales y contacto con humanos, y en la mayor parte de estas la fuente del virus no es demostrada (Zimmerman, 2003).

Conocer la fuente de infección comprende reconocer adecuadamente las vías por las cuales el virus puede llegar a la granja entre las principales tenemos ingreso de animales provenientes de una granja infectada ya sea como hembras de reemplazo (Mousin *et al.*, 1997; Le Portier *et al.*, 1997) o por ingreso de verracos o semen infectado procedente de otra granja (Weigel *et al.*, 2000; Mortensen *et al.*, 2002).

El ingreso del virus mediante vehículos de transporte animal (Pitkin *et al.*, 2009a; Otake *et al.*, 2002a), la transmisión vía aerógena que se ha demostrado experimentalmente en largas distancias bajo condiciones adecuadas (Dee *et al.*, 2009) y los vectores como los mosquitos (Otake *et al.*, 2002b) pueden constituir puntos importantes de riesgo de nuevas infecciones en una granja (Torremorell, 2004).

### **2.3.2.4. Transmisión Dentro de Granjas**

Una vez la granja es infectada, el virus del PRRS permanece circulando de manera indefinida en la granja (Zimmerman, 2003). Se ha encontrado que un 90% de las cerdas seroconvierten en un lapso de 3 meses desde que la enfermedad aparece por primera vez y que un 15 a 25% pueden escapar de la infección para infectarse en meses posteriores contribuyendo al mantenimiento de la circulación del virus (Robert *et al.*, 1993).

En un lapso de dos años el porcentaje de animales afectados puede disminuir hasta un 30% (Loula, 1992). Un 80 a 100% de animales logra infectarse a las 8 a 9 semanas de edad (Dee *et al.*, 1996) y en animales destinados a mercado procedentes de granjas infectadas se encontraron en un porcentaje de 96% de animales infectados (Maes, 1997).

El ingreso de animales de recambio susceptibles a una granja infectada puede mantener la cadena de infección excretando el virus hasta el ingreso de un siguiente lote de recambio (Torremorell, 2004); sin embargo estas circunstancias de infección en lotes de animales seronegativos con animales con diversos niveles de seroconversión se verían limitadas debido al sistema de manejo en el cual existe un contacto mínimo entre diferentes lotes o mediante una infección previo al ingreso en la granja (Dee *et al.*, 1996; Cho y Dee, 2006; Torremorell, 2004).

La forma principal en la cual se concreta la transmisión en la granja es mediante la transmisión intrauterina y el contacto de lechones afectados con otros animales susceptibles en etapas posteriores de la producción (Zimmerman, 2003). Los cerdos en crecimiento pueden actuar como reservorio del virus e infectar a lechones destetados al momento que pierden su inmunidad materna, estos hacen contacto con el virus excretado por animales de más edad o por animales persistentemente infectados que pueden diseminar el virus por periodos largos de hasta 250 días post infección (Loula, 1992; Wills *et al.*, 2003; Choo y Dee, 2006).

### **2.3.3. Periodo de Incubación:**

El periodo de incubación es variable, se ha logrado encontrar experimentalmente signos clínicos en animales susceptibles a partir de 2 a 7 dpi, de acuerdo a la edad animal, el tipo de cepa, estado inmunitario del animal entre otros (Halbur *et al.*, 1996b; Hirose *et al.*, 1995; Shibata *et al.*, 1998; Rossow *et al.*, 1994; Benson *et al.*, 2000; Klinge *et al.*, 2009).

### **2.3.4. Vías de Eliminación:**

El virus logra ser eliminado a través de secreciones nasales, saliva, semen, calostro y heces teniendo un periodo de excreción variable según la vía de excreción; así pues se ha detectado en saliva hasta 42 dpi, en orina 14 dpi, en heces 35 dpi, secreciones nasales a 21 dpi y semen hasta 92 dpi (Rossow *et al.*, 1994; Wills *et al.*, 1997b; Christopher-Hennings *et al.*, 1995a, 1995b).

### **2.3.5. Factores de Riesgo:**

El virus del PRRS es una enfermedad que afecta a cerdos de todas las edades, que pueden variar de un estado subclínico a un cuadro severo en el cual incluye fracaso

reproductivo, la severidad de la enfermedad asociadas al virus del PRRS están vinculadas a un conjunto de factores (Halbur, 2003).

Halbur *et al.*, (1996b) encontró que aislados mas virulentos se encontraron en más cantidad en pulmones, nódulos linfáticos y tonsilas comparados con aislados menos virulentos, asociados a un nivel de réplica mayor en aislados más virulentos. Otro estudio observó que cepas muy virulentas pueden persistir por mayor tiempo y encontrarse en más tejidos comparados con cepas de baja virulencia (Haynes *et al.*, 1997).

Generalmente se considera que animales con mayor edad resuelven mejor la enfermedad comparado con animales jóvenes, no teniendo bien esclarecido si el factor edad está vinculada a la persistencia del virus (Zimmernan, 2003). Se ha observado en verracos que la excreción del virus en semen no está necesariamente vinculada a la viremia, el virus puede persistir aún en tonsilas de animales serológicamente positivo sin diseminar el virus en semen (Christopher-Hennings *et al.*, 1995a).

Se evaluó el consumo de una dieta alimenticia a base de soya y la concentración de geisteina encontrando que el aumento de la concentración de esta podría estar vinculada a una menor concentración de PRRS en el suero (Greiner *et al.*, 2001), otros factores vinculados a la dieta podría estar relacionado a la presencia de micotoxinas que podría predisponer a la presentación de PRRS (Bane *et al.*, 1992).

Se ha observado que verracos Hampshire eran aparentemente más resistentes a diseminar PRRSV por el semen comparado con cerdos Yorkshire y Landrace teniendo respuestas variables de presencia en suero sangre periférica y células mononucleares, sin embargo el tamaño reducido de la muestra de animales no generó una conclusión estadísticamente significativa (Christopher-Hennings *et al.*, 2001). Halbur *et al.*, (1998) evaluaron cerdos Duroc, Hampshire y Meishan inoculados con PRRSV de 22 a 38 días de edad a los 10 dpi, encontró una diferencia en lesiones macroscópicas pulmonares considerablemente más notables en cerdos Hampshire, además los cerdos Meishan presentaron mayores lesiones de miocarditis y encefalitis con una menor cantidad de antígeno en pulmones; los cerdos Duroc mostraron tener menor cantidad de anticuerpos.

#### **2.4. Patogenia:**

El virus ingresa principalmente por la vía oronasal, realiza su replicación primaria al afectar células del tipo monocito/macrófago asociados a cornetes nasales, tonsilas o pulmones, siendo transportados intracelularmente o vía linfática a los nódulos linfáticos regionales donde se replica de manera secundaria en macrófagos residentes (Rossow, 1998; Rossow *et al.*, 1995),

alcanzando luego la sangre que le permite llegar a todos los tejidos multiplicándose en macrófagos de todo el organismo (Rossow, 1998).

No todos los macrófagos son permisivos al PRRSV, se sabe que menos del 2 % de los macrófagos son permisivos a la replicación (Duan *et al.*, 1997), y estos disminuyen con la edad (Thanawongnuwech *et al.*, 1998), además el virus muestra mayor predilección por macrófagos inmaduros (Choi *et al.*, 1994; Mengeling *et al.*, 1995). Todos estos factores serian un indicativo del por qué la enfermedad es más grave en cerdos jóvenes (Goyal, 1993).

El estado de viremia puede detectarse desde las 12 h post infección (Rossow *et al.*, 1995), la cual puede ser muy prolongada con una amplia variabilidad entre individuos, encontrándose de 2-4 semanas en animales adultos y hasta 3 meses en lechones (Van der Liden *et al.*, 2003; Zimmerman, 2003).

EL virus del PRRS tiene dos formas de presentación, la forma aguda que se presenta en las primeras dos semanas de la enfermedad, caracterizada por títulos virales altos, distribución en órganos susceptibles de todo el cuerpo, ocasionando cuadros respiratorios en cerdos jóvenes y abortos tardíos en hembras. La forma persistente que se caracteriza por la presencia de una replicación viral baja en algunos órganos como pulmones y órganos linfoides, como tonsilas (Suárez, 2000), puede presentarse por largos periodos en cerdos de todas las edades por infección de estos en el útero o una infección en animales jóvenes o adultos encontrándose hasta 250 dpi (Wills *et al.*, 2003).

Se ha detectado antígeno viral en cornete nasal, pulmón, linfonodulos, corazón, timo, vasos sanguíneos, hígado, glándulas adrenales, riñones, intestino, cerebro y testículos (Halbur *et al.*, 1995; Halbur *et al.*, 1996a; Sur *et al.*, 1997). Teniendo mayor predilección por órganos linfoides y pulmón ocasionando neumonía intersticial y linfadenopatía (Rossow *et al.*, 1995, 1996).

## **2.5. Sintomatología:**

### **2.5.1. Verracos:**

En verracos la infección de PRRSV pasa normalmente desapercibida, aunque pudieran presentar anorexia, letargia y pérdida de la libido que puede observarse por una semana (Thacker, 2003). El virus puede localizarse en el testículo, pudiendo replicarse en macrófagos del intersticio, células germinales de los túbulos seminíferos, espermatidas y espermatozoides (Sur *et al.*, 1997), por lo que el virus podría ser liberado en el semen en ausencia de viremia, pudiendo estar asociado a células como a la fracción no espermática (Christopher Hennings *et*

*al.*, 1995a, 1995b); se han descrito alteraciones en la calidad del semen, como descenso de la motilidad de los espermatozoides, incremento de anomalías morfológicas (Prieto *et al.*, 1996).

### **2.5.2. Marranas:**

Los primeros síntomas observados son anorexia, fiebre y letargia que pueden pasar desapercibidos, también pueden observarse edema de tejido subcutáneo y lesiones de la piel como decoloración purpúrea de los oídos y de la vulva (Rossow, 1998). Se pueden observar fallos reproductivos como incrementos de retorno al celo, descenso en la intensidad del celo e incluso abortos tempranos, en cerdas grávidas el virus puede atravesar la barrera placentaria pudiendo afectar a fetos los cuales pueden nacer viremicos o persistentemente infectados que ocurre en cerdos a la segunda mitad de la gestación (Mengeling *et al.*, 1994).

Durante los dos primeros tercios de la gestación la importancia del PRRSV es relativamente baja aunque puede observarse también problemas reproductivos en esta etapa (Mengeling *et al.*, 1994; Tepstra *et al.*, 1991), ocurriendo generalmente lesiones y muerte durante el último tercio de la gestación (Lager y Mendeling, 1995). Si la infección ocurre cerca del parto, la camada puede manifestar abortos tardíos, fetos momificados, lechones nacidos muertos, lechones débiles y cerdos normales infectados o no con un aumento de la mortalidad en lactación (Christianson *et al.*, 1991).

### **2.5.3. Cerdos de crecimiento y engorde:**

La severidad de presentación en crecimiento y engorde depende de la edad del animal siendo más severa en animales jóvenes (Rossow *et al.*, 1994). Los lechones lactantes presentan respiración abdominal, conjuntivitis, tos o edema palpebral (Rossow *et al.*, 1994), además de algunos signos asociados a alteraciones circulatorias como cianosis de las orejas, eritema cutáneo y pelo áspero (Rossow, 1998), signos nerviosos, somnolencia y anorexia también han sido descritos (Rossow *et al.*, 1999).

Los lechones destetados presentan diversos signos clínicos, entre ellos fiebre, disnea, neumonía, letargia, debilidad, estos casos pueden presentarse acompañados de infecciones secundarias (Rossow *et al.*, 1996), en tanto que en lechones en cebo puede manifestarse con fiebre transitoria inapetencia y menores rendimientos productivos (Goyal, 1993; Rossow *et al.*, 1996). La mayor parte del tiempo el PRRSV puede pasar desapercibido en cerdos de engorde demostrando solo fiebre, dificultad respiratoria y pérdida de peso cuando es inoculado con otros agentes patógenos (Van Reeth *et al.*, 1996).

## **2.6. Lesiones:**

Generalmente las lesiones macroscópicas por el PRRSV son variables de acuerdo al genotipo viral, si está acompañado con otras enfermedades, la edad entre otros (Rossow, 1998); las principales lesiones se producen en sitios de replicación viral donde están ubicados los macrófagos es decir en pulmones y tejido linfóide, las lesiones observadas en órganos como cerebro, riñón, corazón e hígado son debidas principalmente al daño endotelial (Rossow *et al.*, 1995; Ramírez, 2005; Halbur *et al.*, 1996b).

La lesión pulmonar principal está caracterizada por una neumonía intersticial, se puede observar además consolidación del parénquima pulmonar y un moteado de color rojo grisáceo que puede ser focalizado en los lóbulos craneales o distendido en todo el parénquima pulmonar, así como fluido edematoso en toda la superficie pulmonar y septos interlobulillares distendidos (Rossow, 1998; Rossow *et al.*, 1995; Ramírez, 2005; Halbur *et al.*, 1996b; Halbur *et al.*, 1995). Los nódulos linfáticos se encuentran aumentados de tamaño, siendo esta lesión más evidente en cerdos jóvenes, que pueden tener una consistencia solida o poliquística (Rossow *et al.*, 1998).

La lesión microscópica del pulmón se observa una neumonía intersticial proliferativa multifocal con hiperplasia de neumocitos tipo II y presencia de células mononucleares principalmente macrófagos, en los ganglios linfáticos se observa hipertrofia e hiperplasia de centros germinales acompañado de necrosis folicular y un aumento en el numero de macrófagos en los sinusoides (Rossow *et al.*, 1994; Rossow, 1998; Halbur *et al.*, 1995). Otras lesiones observadas son una rinitis con pérdida de cilios en células epiteliales, una encefalitis no supurativa y una miocarditis multifocal, las lesiones fetales observadas pueden ser caracterizadas por vasculitis, miocarditis y encefalitis (Rossow *et al.*, 1998).

## **2.7. Respuesta Inmunológica:**

Dentro de las características inmunológicas del VPRRS se debe considerar diversos aspectos que contribuyen a una inadecuada respuesta inmunológica, entre ellas la presencia de viremias prolongadas o animales persistentemente infectados (Wills *et al.*, 1997c) y la ineficacia total o parcial frente a infecciones heterólogas (Meng, 2000).

### **2.7.1. Respuesta Innata Frente al PRRSV:**

La resistencia inicial que se presenta frente al PRRSV depende principalmente de la respuesta antiviral de las células infectadas y del sistema innato en los primeros días antes del desarrollo de la respuesta adaptativa (Flores y Hernandez, 2010), el virus toma ventaja frente al



cerdo al evadir en cierto grado la respuesta innata al infectar primero a células macrófagos y células dendríticas (Mengeling *et al.*, 1995; Van Breedam *et al.*, 2010).

El IFN- $\alpha$  que produce una serie de proteínas destinadas a inhibir la replicación viral y síntesis de proteínas virales, ha mostrado una eficiente respuesta *in vitro* al controlar la infección de cultivos celulares inhibiendo la replicación viral; sin embargo, en estudios *ex vivo* muestran una baja expresión de esta citoquina (Albina *et al.*, 1998), encontrándose en magnitudes hasta 1000 veces menor a las encontradas por otras infecciones respiratorias virales como el virus de la influenza o el coronavirus respiratorio (Van Reeth *et al.*, 1999), fenómeno que puede variar de acuerdo a la cepa estudiada (Lee y Kleiboeker, 2004) o si el virus es inactivado (Albina *et al.*, 1998).

También se ha observado que la liberación de TNF- $\alpha$  es indetectable a partir de lavados broncoalveolares y una elevada producción de IL-1 (Van Reeth *et al.*, 1999), la producción elevada de IL-1 está relacionada a la infiltración de células mononucleares en el pulmón y los síntomas de fiebre y anorexia (Paton *et al.*, 1992). La producción de células NK responsable de la respuesta citotóxica natural, se detecta en niveles bajos a las primeras horas post infección (Lamontagne *et al.*, 2003) y es observable un aumento de estas células a los 5 días después de la infección (Samsom *et al.*, 2000), esta característica puede ser debida a la baja producción de IFN- $\alpha$  ya que es un activador y estimulador de la proliferación de este tipo de células (Murtaugh *et al.*, 2002).

## **2.7.2. Respuesta Adquirida Frente al PRRSV:**

### **2.7.2.1. Respuesta Humoral:**

La respuesta de anticuerpos aparece rápidamente tras la infección detectándose anticuerpos IgM anti-PRRSV a partir de los días cinco a siete post infección, volviéndose indetectables a las dos o tres semanas (Joo *et al.*, 1997; Loemba *et al.*, 1996; Yoon *et al.*, 1995), a los siete a diez días se detectan anticuerpos IgG que aumentan de la segunda a la cuarta semana (Joo *et al.*, 1997; Loemba *et al.*, 1996) pueden permanecer constantes por meses detectándose a niveles bajos hasta por periodos de 300 días (Nelson *et al.*, 1994; Nielsen y Botner, 1997). Los anticuerpos IgA se detectan a partir del día 14pi obteniendo un pico máximo a los 25 dpi permaneciendo detectable hasta los 35 dpi (Labarque *et al.*, 2000).

La mayoría de estos anticuerpos van dirigidos hacia la proteína N y no poseen una capacidad neutralizante al virus (Yoon *et al.*, 1995), esos anticuerpos no tienen una función de

eliminación al PRRSV ni en la protección frente a reinfecciones (Murthaugt *et al.*, 2002). Se han encontrado anticuerpos no neutralizantes a proteínas GP4, GP5, M y proteínas no estructurales (Cancel-tirado *et al.*, 2004); los anticuerpos contra la proteína N han sido detectado a partir de los días siete pi mientras que anticuerpos contra la proteína M se han detectado al final de la segunda semana pi (Loemba *et al.*, 1996). La presencia de anticuerpos no neutralizantes está asociada a la diseminación del PRRSV en macrófagos, fenómeno conocido como incremento de infección dependiente de anticuerpos (antibody dependent enhancement, ADE, por sus siglas en inglés) (Cancel-Tirado *et al.*, 2004).

Los anticuerpos neutralizantes aparecen de manera tardía encontrándose a partir de la cuarta semana post infección, se encuentran por largos periodos de tiempo pero a niveles bajos (Loemba *et al.*, 1996; Yoon *et al.*, 1995), siendo el principal epitopo de neutralización ubicado en la proteína GP5; Sin embargo la presencia de anticuerpos neutralizantes no permiten la resolución de la viremia, pero si pueden ser importantes para evitar una nueva infección (López y Osorio, 2004).

#### **2.7.2.2. Respuesta Celular:**

La respuesta celular ha sido evaluada mediante la producción de IF- $\gamma$  o células productoras de IF- $\gamma$ . Durante la infección inicial al PRRSV se observa una linfopenia y leucopenia que desaparece a cabo de 8 a 10 días (Christianson *et al.*, 1993; Nielsen y Botner 1997).

La proliferación de células T específica es tardía apareciendo primero a las cuatro semanas post infección (Bautista y Molitor, 1997; López-Fuertes *et al.*, 1999), aunque Olin *et al.*, (2005) ha encontrado linfocitos a partir de la segunda semana pi; la población de células T secretoras de IF-  $\gamma$  consisten en linfocitos CD4+ CD8+ de memoria y CD4+ cooperadoras (López-Fuertes *et al.*, 1999).

La producción de IF- $\gamma$  ha sido descubierto en tejido linfóide, pulmones y células mononucleares asociadas a pulmón (CMSP) de animales infectados con PRRSV (López-fuertes *et al.*, 1999; Rowland *et al.*, 2001), su importancia radica en el papel que juega en la inhibición de la réplica viral y disminución del número de macrófagos que permiten la réplica del PRRSV en estudios in vitro (Bautista y Molitor, 1997; Rowland *et al.*, 2001); sin embargo la persistencia del virus en nódulos linfoides y pulmones sugiere que la producción de IF- $\gamma$  es baja o insuficiente para eliminar el PRRSV (Murtaugh *et al.*, 2002).

## **2.8. Diagnostico:**

El diagnóstico de esta enfermedad se basa principalmente en los signos clínicos, lesiones anatomopatológicas, diagnóstico serológico y aislamiento viral (Goyal, 1993).

### **2.8.1. Diagnóstico Clínico:**

El diagnóstico clínico está basado en los signos clínicos de la enfermedad, sin embargo presenta muchas dificultades ya que estos pueden variar muy significativamente de una granja a otra y entre individuos; además la coinfección de esta enfermedad con infecciones bacterianas, virales puede alterar aun más en el diagnóstico certero y muchas veces puede ser confundido con otras enfermedades.

El diagnóstico basado en signos clínicos como fallas reproductivas en machos y hembras o problemas respiratorios en cerdos de producción son muy subjetivos y pueden ser parte para establecer un diagnóstico presuntivo en el plantel (Ramírez, 2005). Una evaluación al plantel de reproductores podría dar una vista a una posible infección del hato observando sus parámetros reproductivos entre los cuales puede observarse un aumento de abortos, nacidos prematuros, nacidos vivos, autolíticos o momificados y mortalidad de cerdos a la primera semana de vida (Goyal, 1993; Ramírez, 2005).

Una granja afectada por el virus del PRRS muestra una serie de alteraciones en parámetros productivos que en muchos casos no puede diferenciarse de enfermedades como el parvovirus porcino, enfermedad de Aujeszky o circovirus porcino tipo 2, entre otros virus (Halburg, 2003).

### **2.8.2. Diagnostico Anátomo Patológico:**

No existen lesiones macroscópicas ni microscópicas patognomónicas y muchas veces las lesiones causadas por otros agentes patógenos pueden ser parecidas o esconder las lesiones causadas por el PRRSV (Ramírez, 2005).

Generalmente no se observan lesiones macroscópicas en la necropsia y si estas son evidentes se observa una neumonía que puede fácilmente enmascararse por lesiones producidas por otro agente secundario, los ganglios linfáticos en animales jóvenes se pueden observar aumentados de tamaño.

El principal órgano a remitir es el pulmón el cual debe ser enviado aun así no se evidencien daños macroscópicos evidentes, también se recomienda remitir cerebro, corazón, pulmón, bazo, ganglios linfáticos y cornetes nasales (Rossow, 1998).

Tanto el diagnóstico clínico como el anatómico-patológico nos pueden dar solo una aproximación al diagnóstico de infección por PRRSV por lo que es necesario llevar a cabo un diagnóstico de laboratorio.

### **2.8.3. Pruebas de Detección Viral:**

El diagnóstico virológico del PRRS es difícil debido a que las células elegidas para aislar el virus son los macrófagos alveolares porcinos (MAP) que deben extraerse de cerdos preferentemente libres de patógenos de menos de 6-8 semanas de vida (Yoon *et al.*, 1992a). Las líneas celulares continuas como las células de riñón de mono no pueden reemplazar completamente a los macrófagos alveolares por que estas no permiten la multiplicación de todos los aislados especialmente del tipo europeo (OIE, 2004); se sabe que para el diagnóstico de cepas europeas es necesario el uso de macrófagos alveolares porcinos (Dewey *et al.*, 2000), por lo que se sugiere que al menos dos tipos celulares sean usados para el aislamiento viral (Yoon *et al.*, 2003).

En lechones durante el primer mes de infección las muestras para el aislamiento son suero, pulmón, linfonodos, lavado broncoalveolar y tonsilas (Mengeling *et al.*, 1995), pero en infecciones persistentes las tonsilas, linfonodos, raspados orofaríngeos y los fluidos de lavados broncoalveolares son más aconsejables que el suero o pulmón (Christopher Hennings *et al.*, 2001; Mengeling *et al.*, 1995). Si el problema observado es relacionado a problemas de reproducción las mejores muestras constituyen los lechones nacidos muertos o nacidos débiles, especialmente el suero de estos animales (Done *et al.*, 1996), abortos, cerdos momificados o mortinatos no son recomendables ya que estas muestras pueden tener algún grado de autólisis al cual es susceptible el virus (Van Alstine *et al.*, 1993).

En general PRRSV provoca un efecto citopático (ECP) en los macrófagos después de 1-2 días de cultivo, pero a veces los virus provocan efecto citopático inapreciable o se observa tras pases sucesivos (OIE, 2004), una vez se observa el ECP el PRRSV debe ser identificado por pruebas complementarias como la inmunofluorescencia (IF) o la inmunoperoxidasa en monocapa (IPMA).

### **2.8.4. Detección de Antígeno Viral:**

Para la detección de antígeno viral en tejido las pruebas utilizadas son la inmunofluorescencia y la prueba de inmunohistoquímica; estas técnicas tienen mayor aplicación en la investigación que en el diagnóstico de rutina ya que permite diagnosticar animales individualmente (Ramírez, 2005). Además de poder usar en estas pruebas anticuerpos

monoclonicos o policlonicos dirigidos a antígenos conservados o variables de determinadas cepas para evaluar la diferencia entre los tipos de cepas encontradas (Nelson *et al.*, 1993).

La prueba de inmunofluorescencia se puede realizar a partir de tejido fresco o congelado de pulmón o bazo usando anticuerpos monoclonales o policlonales conjugados con fluoresceína, tiene la característica de ser una técnica muy barata además de rápida, es muy específica pero no siempre muy sensible en donde la calidad del tejido (que puede ser afectado por autólisis) puede afectar el resultado de la prueba (Benfield *et al.*, 1992; Yoon *et al.*, 2003).

La técnica de inmunohistoquímica es útil porque se pueden descubrir antígenos a partir de tejidos fijados con formalina; sin embargo tejidos fijados con formalina al 10% por más de 48 horas pueden disminuir la presencia de antígeno en los tejidos (Rossow, 1998). Existen dos tipos de pruebas de inmunohistoquímica: la de inmunoperoxidasa (Halburg *et al.*, 1995) y la de coloración de plata inmunogold (Larochelle y Magar, 1995), se realiza en varios tipos de órganos como pulmón, tejido linfóide, hígado, bazo, entre otros. Esta técnica es más sensible que la técnica de inmunofluorescencia en la detección de antígenos pero requiere de más tiempo y es más caro (Ramírez *et al.*, 2005).

Un diagnóstico definitivo puede llevarse a cabo mediante el descubrimiento de las lesiones microscópicas características del VPRRS junto con las pruebas de inmunohistoquímica o inmunofluorescencia (Yoon *et al.*, 2003).

#### **2.8.5. Detección de Material Genómico Viral:**

Para la detección de ácido nucleico del virus se usa principalmente la técnica de hibridación *in situ* (detección de cortes en tejidos) y la transcripción inversa de la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) y sus variantes (RT-PCR anidada y RT-PCR cuantitativa).

La técnica de PCR es una prueba basada en la detección de ARN viral de especímenes clínicos, puede ser realizado en corto tiempo en comparación de la técnica de aislamiento viral además resulta siendo una técnica que posee una mayor sensibilidad y especificidad que otras pruebas (Yoon *et al.*, 2003).

Esta prueba resulta útil para detectar PRRSV en muestras que resultarían citotóxicas para la detección por aislamiento viral en cultivos celulares como semen (Christopher-Hennings *et al.*, 1995a) y heces o muestras en las cuales el virus del PRRS es susceptible a la inactivación por procesos de autólisis como muestras fecales o fluidos torácicos (Yoon *et al.*, 2003).

La técnica de hibridación *in situ* detecta ácidos nucleicos virales en tejidos, se han evaluado realizar esta prueba en tejidos fijados con formalina (Larochelle *et al.*, 1996), esta

prueba puede ser útil no en objetivos diagnósticos sino en estudios retrospectivos de la infección o para investigar o elucidar la patogénesis de la infección del virus (Yoon *et al.*, 2003).

#### **2.8.6. Detección de Anticuerpos:**

La prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI) ha sido usada encontrándose que tiene una alta especificidad. Se han ensayado pruebas de IFI dirigidas a la Ig M siendo útil para la detección de VPPRS en la fase aguda o reciente de la enfermedad (Park *et al.*, 1995). La prueba de inmunoperoxidasa en monocapa (IPMA) se basa en la detección de VPPRS en macrófagos o líneas celulares infectadas, con esta técnica puede encontrarse anticuerpos a partir de los 7 a 15 dpi, encontrándose al igual que la IFI hasta los 2-3 meses después de la infección (Yoon *et al.*, 2003).

La detección de anticuerpos neutralizantes es considerada una prueba de elevada especificidad, pero su aplicación tiene el inconveniente que los anticuerpos neutralizantes aparecen varias semanas después de la infección; esta prueba es considerada mas en términos de investigación que en pruebas de diagnóstico por la naturaleza de su elaboración (Yoon *et al.*, 2003).

La técnica de ELISA (Ensayo inmunoenzimático ligado a enzimas) es una técnica ampliamente usada en diagnóstico, se han desarrollado varios tipos encontrándose ELISA indirectas (Yoon *et al.*, 1995; Albina *et al.*, 1992) y ELISAs de bloqueo. Los resultados encontrados en esta prueba deben ser evaluados para determinar la presencia de la enfermedad, un resultado positivo no necesariamente puede significar la presencia de la enfermedad; ya que puede estar asociado a la presencia de anticuerpos maternos, la presencia de animales negativos puede indicar la no seroconversión en cerdos infectados o la presencia de cerdos infectados que se han hecho seronegativos (Yoon *et al.*, 2003).

#### **2.9. Prevención y Control:**

Una de las medidas principales a tomar en cuenta es el manejo de animales de reemplazo. En una granja infectada se recomienda que los animales de reemplazo deben ser infectados con la cepa de la granja, durante su cuarentena exponerlo a la infección mediante el uso de vacunas, contacto con animales de descarte entre otros, luego de esto pueden ser ingresarlos una vez librados de la infección, se puede usar como referencias diagnóstica la prueba de ELISA (Torremorell, 2004).

El ingreso de semen procedente de otras granjas constituye otro factor de riesgo importante, ya que el virus podría estar presente en el semen del verraco aun cuando muestre

serología negativa, por lo que se recomendaría su evaluación mediante técnicas como el RT-PCR. (Christopher Hennings *et al.*, 1995a; 1995b).

Es importante seguir un flujo unidireccional de la granja a fin de evitar que el virus presente en el engorde pase al destete y así sucesivamente (Torremorell, 2004). Se deben aplicar medidas de bioseguridad adecuadas manejando el sistema todo dentro todo fuera en la granja además de un correcto protocolo de limpieza de vehículos de transporte (Dee *et al.*, 2005) como del material infectado y personal de granja (Pitkin *et al.*, 2009a).

Una vía de considerar en la transmisión en granjas es considerando una posible transmisión viral vía aerógena; si bien estudios experimentales han demostrado resultados a veces contradictorios acerca de esta forma de transmisión (Wills *et al.*, 1997a; Dee *et al.*, 2009) en condiciones de campo se considera como una forma probable de transmisión (Le Portier *et al.*, 1997). Otra vía sería los insectos (Otake *et al.*, 2002b Pitkin *et al.*, 2009b); sin embargo podrían considerarse como vías de bajo riesgo (Torremorell, 2004).

### **III. MATERIALES Y METODOS**

#### **3.1. Lugar de Estudio:**

El estudio fue realizado en una granja porcina tecnificada ubicada en el valle de Lima, dicha granja posee tres planteles distintos destinados al área de maternidad, de recría y engorde.

#### **3.2. Descripción de la Granja:**

##### **3.2.1. Manejo de la Granja:**

La granja maneja el sistema todo dentro todo fuera, el área de maternidad posee una infraestructura en piso de concreto y camas de paja manejando microclimas para la madre y los lechones, prácticas comunes en esta área es la uniformización del lote, corte de colmillos y cola e inyección de hierro dentro de la primera semana de vida, a la segunda semana de vida se realiza un proceso de tatuado. El área de recría consiste en galpones compuesto de paredes de madera y piso de arena con corrales para cada lote compuesto por 200 animales por lote, el manejo de temperatura y ventilación se realiza mediante el uso estufas inicialmente en animales jóvenes luego del uso de cortinas; la limpieza de excretas es por recojo del exceso de heces en el piso. El área de engorde posee una infraestructura de concreto, el lote destinado a esta área se divide según el sexo y tamaño del animal.

##### **3.2.2. Antecedentes Sanitarios:**

El área de maternidad presenta antecedentes de abortos, fetos momificados, nacidos débiles, lechones con problemas respiratorios y problemas diarreicos ocasionado por el



Circovirus porcino tipo 2 y el virus del PRRS. Estos problemas habían sido superado en base a estrictas medidas de bioseguridad; el área de recría manifiesta antecedentes de diarreas y problemas respiratorios observados por signos de tos y respiración abdominal marcada; el área de engorde manifiesta antecedentes diversos entre los observados son úlceras gástricas, enteritis, neumonías y cuadros compatibles al síndrome de desmedro multisistémico post destete. Dentro del protocolo sanitario se realizan vacunas contra micoplasmosis a las 4 semanas y contra la peste porcina clásica a las 8 semanas. El destete se realiza a los 24 días y pasan al corral de recría, a los 77 días de edad pasan al corral de engorde y acabado y son llevados al camal entre los 130 a 140 días.

Debido a los problemas sanitarios post destete se estableció la vacunación contra el Circovirus tipo 2, agente causal del síndrome de desmedro multisistémico post destete, en los lechones a los 32 días de edad, aprovechándose este manejo para la obtención de las primeras muestras de suero.

### **3.3. Materiales:**

#### **3.3.1. Animales:**

Debido a la decisión del porcicultor de iniciar la vacunación contra el Circovirus porcino tipo 52, se eligieron dos lotes de 200 lechones cada uno. Un lote fue vacunado y el otro lote no fue vacunado. Para el presente estudio se eligió 30 lechones del lote no vacunado al azar sin importar sexo ni condición física los cuales fueron identificados con número de tatuaje.

#### **3.3.2. Equipos:**

Lector de ELISA, centrifuga, tubos al vacío (Vacutainer) sin anticoagulante, agujas vacutainer, viales, micropipetas simples y multicanales de 5 -50  $\mu$ L, 50 – 200  $\mu$ L, y de 200 – 1000  $\mu$ L, refrigeradora, congeladoras, pipetas pasteur, caja térmicas para transporte.

#### **3.3.3. Reactivos:**

Kit de comercial de ELISA para la detección de anticuerpos frente al HerdChek PRRS X3 ® (IDEXX), consistente en placas tapizadas con antígeno recombinante del VPPRS, suero control positivo a VPPRS, suero control negativo a VPPRS, conjugado anti-porcino IgG:HRPO, diluyente de la muestra, solución de lavado, sustrato TMB y solución de frenado (SDS).

### **3.4. Metodología:**

#### **3.4.1. Obtención de Muestras:**

Las muestras de sangre fueron obtenidas de los 30 lechones de un lote de 200 animales no vacunados contra el circovirus porcino tipo 2 en tres periodos de muestreo. La obtención de muestras de sangre entera fue realizada mediante la punción de la vena cava anterior (Jackson y Cockcroft, 2002) utilizando tubos al vacío sin anticoagulante, la primera toma de muestra se realizó a los 32 días, la segunda a los 61 días y la tercera a los 136 días de edad en el matadero durante el beneficio. Se colectaron muestras de los mismos animales durante las tres etapas de muestreo.

Las muestras de sangre fueron identificadas y transportadas al laboratorio de Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria (FMV) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM) para la obtención del suero mediante centrifugación y conservadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de realizar la prueba serológica.

#### **3.4.2. Observación de los animales durante el estudio:**

Todos los animales del lote en estudio fueron observados diariamente en busca de problemas respiratorios, desmedro, número de muertos, entre otros en una ficha diseñada para tal fin.

Durante el beneficio de los animales, se colectaron muestras de suero y nódulos linfáticos mediastínicos de cada uno de los 30 animales para la detección del antígeno del VPRRS mediante la técnica de inmunofluorescencia directa. No se colectaron muestras de pulmón por no presentar lesiones macroscópicas.

#### **3.4.3. Detección de anticuerpos contra VPRRS:**

Los anticuerpos contra VPRRS fueron detectados mediante la prueba de ELISA indirecta realizado de acuerdo al manual del kit comercial, brevemente la prueba consistió:

Preparación de reactivos

Todos los reactivos del kit de ELISA se llevaron a temperatura ambiente ( $18^{\circ}$ - $25^{\circ}\text{C}$ ), las muestras se diluyen previamente a 1/40 con el diluyente de muestras.

Detección de anticuerpos contra VPRRS

- Se colocaron  $100\mu\text{L}$  de controles sin disolver en los pocillos de la placa previamente predeterminadas.

- Se dispensaron 100 µL de muestra diluida 1/40 en los pocillos correspondientes
- Se incubó la placa durante 30' a temperatura ambiente (18°-25°C).
- El contenido presente en los pocillos de la placa se eliminó y se lavó tres veces con la solución de lavado y secado con papel absorbente para eliminar algún líquido residual presente en la placa.
- Se adicionaron 100 µL de conjugado en cada pocillo.
- La placa se incubó nuevamente durante 30' a temperatura ambiente.
- Se eliminó el contenido presente en los pocillos de la placa, lavando luego con la solución de lavado y secado con papel absorbente.
- Se añadieron 100 µL de la solución sustrato a cada pocillo de la placa.
- La placa se incubó luego a temperatura ambiente durante 15'.
- Se añadió luego la solución de frenado a cada pocillo de la placa para detener la reacción.
- Se procedió a la lectura de la densidad óptica de la placa mediante el espectrofotómetro usando un filtro de 650nm de absorvancia.

#### Lectura e Interpretación de Resultados:

La densidad óptica está relacionado con la cantidad de anticuerpos frente al VPRRS, presencia o ausencia de anticuerpos se determina calculando el coeficiente la muestra sobre el control positivo (M/P) de cada muestra según los cálculos proporcionados por el protocolo de kit, si el coeficiente M/P es inferior a 0,4 la muestra es clasificada como negativa; si esta es mayor o igual a 0,4 es clasificada como positiva en anticuerpos contra el VPRRS.

### 3.5 Análisis de Datos:

#### 3.5.1 Frecuencia

La frecuencia fue determinada drante las tres etapas de la toma de muestra mediante la siguiente fórmula (Thursfield, 1990):

$$\text{Frecuencia} = \frac{\text{Número de animales positivos a anticuerpos} \times 100}{\text{Total de animales de la muestra}}$$

### **3.5.2 Pruebas Estadísticas**

En el presente estudio representa un modelo de estudio longitudinal de variables repetidas en tres tiempos (etapas de muestreo), considerando la variable respuesta a los valores de coeficiente de positividad, se utilizó la prueba de Análisis de Varianza (ANOVA) para evaluar si existe diferencia significativa entre las tres etapas de toma de muestra con respecto a la variable respuesta; además se realizó la misma prueba para evaluar el contraste del modelo evaluado. Por último se utilizó un modelo de regresión lineal denominado “Modelo Mixto Lineal” que es el que explica mejor el comportamiento de la variable respuesta en medidas repetidas contrastándolo además con la variable sexo.

#### **IV. RESULTADOS:**

En el Cuadro 1 se presenta la frecuencia de animales positivos a anticuerpos contra el VPRRS a los 32, 61 y 136 días de edad observándose que los anticuerpos maternos fueron catabolizados antes de los 60 días. Los coeficientes muestra sobre positivo (M/P) de los sueros analizados en las tres etapas de muestreo se muestran en el Cuadro 2 y Figura 1 donde solo un gorrino no presentó anticuerpos contra el VPRRS a los 136 días de edad.

Los animales monitoreados (n=30) no mostraron signos clínicos de tipo respiratoria ni mortalidad durante toda la etapa de observación. Los pulmones de algunos los animales presentaron lesiones leves compatibles con Mycoplasma. Sin embargo los nódulos linfáticos mediastinicos en la mayoría de los animales tuvieron una ligera congestión. No se detectó antígeno del VPRRS en los nódulos linfáticos de los 30 animales.

El análisis estadístico mediante la prueba de ANOVA (Cuadro 3) muestra que el modelo evaluado muestra valores significativos; por lo que se rechaza la hipótesis nula que los valores de densidad óptica son iguales en las tres etapas de muestreo, se realizó entonces un análisis de varianza para evaluar el contraste de los datos consiguiendo valores significativos respecto al comportamiento lineal (datos no mostrados) y al contraste cuadrático (Cuadro 4) siendo este último el que se ajusta mejor al comportamiento de los datos.

Por último, el cuadro 5 muestra el modelo mixto lineal el cual evalúa las variables edad de toma de muestra y sexo contrastándolos con nuestra variable respuesta (coeficientes M/P) encontrando valores significativos respecto a la edad; no mostrando diferencia respecto a la variable sexo.

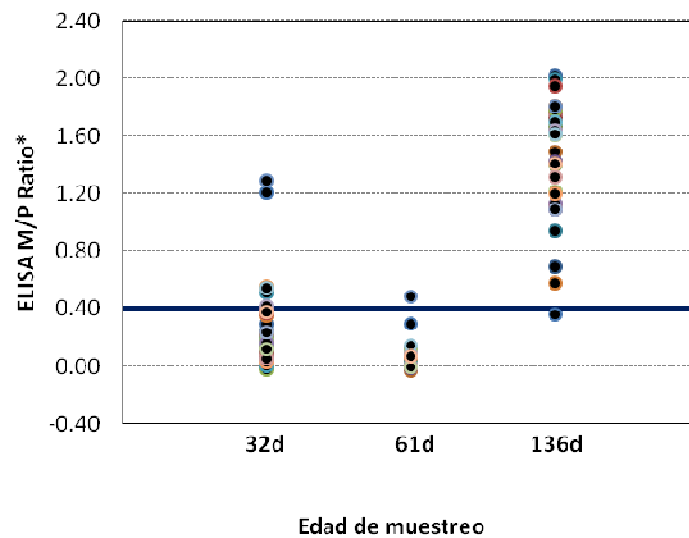
Cuadro 1. Frecuencia de animales seropositivos al Virus de Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino durante las tres etapas de muestreos (n=30)

<b>Edad de muestreo</b>	<b>Animales seropositivos</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
32 días	8	26.7
61 días	1	3.3
136 días	29	96.7

Cuadro 2. Distribución de los coeficientes muestra sobre positivo (M/P) de las muestras de anticuerpos contra el Virus de Síndrome reproductivo y Respiratorio Porcino durante las tres etapas de muestreo (n=30)

<b>Coefficiente M/P</b>	<b>Edad del Muestreo</b>					
	<b>32 días</b>		<b>61 días</b>		<b>136 días</b>	
Rangos de coef. M/P	No	% del total	No	% del total	No	% del total
< 0.4	22	73.3	29	96.7	1	3.3
0.4 - 0.8	6	20.0	1	3.3	2	6.7
0.8 - 1.2	0	0	0	0	5	16.7
1.2 - 1.6	2	6.7	0	0	7	23.3
≥1.6	0	0	0	0	15	50.0
<b>TOTAL</b>	30	100	30	100	30	100

Figura 1. Distribución de coeficientes M/P de las muestras positivas a anticuerpos contra el Virus de Síndrome reproductivo y Respiratorio Porcino durante las tres etapas de muestreo (n=30)



\*Línea de referencia marcada indica el punto de referencia de muestras positivas (0.4) a anticuerpos

Cuadro 3. Resultados del análisis de varianza para evaluar los coeficientes muestra sobre positivo (M/P) de anticuerpos contra PRRS en cerdos durante las fases de recría, crecimiento y acabado.

Fuente	S.C	G.L	C.M	F	Prob > F
Modelo	29.6660599	2	14.8330299	135.85	0.0001*
Edad	29.6660599	2	14.8330299	135.85	0.0001*
Residuo	9.49957991	87	0.109190574		
Total	39.1656398	89	0.440063368		

\* indica un valor estadísticamente significativo

Cuadro 4. Análisis de varianza para evaluar el contraste cuadrático de la tendencia de la densidad óptica del título de anticuerpos

Fuente	S.C	G.L	C.M	F	Prob >  F
Contraste	6.66011826	1	6.6601	136.49	0.0001*
Error	4.2452738	87	0.0488		

\*Indica un valor estadísticamente significativo

Cuadro 5. Elaboración del modelo lineal mixto para determinar el efecto de la edad de los animales sobre los niveles de densidad óptica de anticuerpos contra el VPRRS.

Variable	Coefficiente	Error Standard	Z	Prob > Z	IC (95%)
Edad	-0.7744	0.1014	-7.34	0.0001*	-0.943 – 0.5455
Edad 2	0.5770	0.0487	11.84	0.001*	0.4812 – 0.6726
Sexo	0.0075	0.530	0.14	0.887	-0.096 – 0.1114
intercepto	0.2750	0.0435	6.31	0.001*	0.1896 – 0.3604

\* indica un valor estadísticamente significativo ( $P \leq 0.05$ )



## V. DISCUSIÓN

El resultado serológico llevado a cabo en el presente estudio indica que el VPRRS está presente en la población de cerdos de engorde y acabado de la granja en estudio. El primer muestreo fue realizado 11 días post destete cuando los lechones tuvieron 32 días de edad, entonces se detectó 26.7 % (8/30) de lechones con anticuerpos contra el VPRRS con un coeficiente M/P entre 0.4 a 1.6 (Cuadro 1 y 2), en el segundo muestreo (61 días de edad) solo una muestra fue positivo con un M/P de 0.49. Los anticuerpos detectados en el primer y segundo muestreo fueron anticuerpos de origen maternal, dicha propuesta es apoyada por la mínima presencia de signos clínicos en esta etapa, además del descenso del porcentaje de animales positivos a  $3.33 \pm 6.42\%$  (1/30) y de los valores de coeficientes M/P próximos a 0 (Véase Anexo 1) a la segunda etapa del muestreo.

Similar resultado encontraron Osorio et al., (2002) en donde se desafiaron camadas procedentes de hembras hiperinmunizadas con anticuerpos específicos al PRRSV comparadas con camadas procedentes de hembras no inmunizadas ni expuestas al PRRSV, ambos grupos fueron desafiados con una cepa del PRRSV encontrando que las camadas procedentes de hembras hiperinmunizadas conferían a su camada protección frente a la exposición por el PRRSV; además los valores del coeficiente M/P de la prueba de ELISA de las camadas procedentes de hembras inmunizadas mostraba niveles de anticuerpos en descenso comparado con el otro grupo el cual además de presentar signos clínicos evidentes a la exposición al PRRSV mostraban un aumento de niveles de Ac característicos de una infección activa al PRRSV.

Estudios experimentales han demostrado que los anticuerpos maternos guardan relación con los anticuerpos presente en el suero de las marranas, si la infección viral es eliminada del grupo de marranas, aun los anticuerpos residuales pueden ser transferidos a los lechones (Murtaugh *et al.*, 2002).

Los anticuerpos transferidos via calostro pueden persistir en los lechones hasta 6 a 8 semanas dependiendo de la cantidad de IgG transferido, estos pueden ser adquiridos por vacunación de las marranas o una exposición previa al virus generando seroconversión en ambos casos (OIE, 2008; Murtaugh *et al.*, 2002). En la granja en estudio no se realiza vacunación frente al VPRRS y la presencia de anticuerpos en lechones con ausencia de signos clínicos respiratorios indicaría que estos anticuerpos tienen un origen maternal y que las hembras de la cual procede el lote ha sido expuesto al virus en alguna etapa de su desarrollo. Thacker (2004) encontró que la transferencia de anticuerpos maternos de hembras serológicamente positivas generan cierto grado de protección a la camada; sin embargo esto no logra proteger totalmente a una exposición viral; lo cual no descarta la seroconversión activa por exposición viral; según este autor esto es debido a los diferentes niveles de inmunidad maternal que puede tener un animal determinado dentro de una camada lo que lo haría susceptible a adquirir el virus. En el presente estudio dos de los animales seropositivos muestreados durante la primera toma de muestra muestran valores M/P próximos a 1 (1.21 - 1.29), de los cuales uno permanece positivo durante las tres etapas de muestreo (Anexo 2 y 3), lo cual no se podría descartar este suceso en el grupo en estudio. Los coeficientes M/P de las muestras de suero positivos a anticuerpos detectados a los 32 días de edad fueron relativamente bajos y en solo el 26.7% de los lechones indicando que los anticuerpos fueron catabolizados antes de los 30 días de edad o que los niveles de inmunoglobulinas transferidos vía calostro no fueron los adecuados.

La granja maneja el sistema “todo dentro, todo fuera”. A pesar del buen manejo y buena bioseguridad el PRRSV ingresó a la granja desde entonces la infección esta controlada en el área de marranas aunque no ha sido erradicada. Posteriormente el impacto de la infección fue mayor en el grupo de recría, engorde y acabado complicándose además con infecciones concomitantes o secundarias incrementándose los problemas sanitarios con la presencia del síndrome de Desmedro Post-destete causado por el Circovirus porcino tipo 2 y los problemas respiratorios por lo que se estableció la vacunación contra el Circovirus porcino tipo 2 en los lechones a los 32 días de edad, aprovechándose este manejo para la realización del primer muestreo de suero.

Durante el tiempo que duró el estudio los problemas respiratorios y mortalidad fueron escasos en los lotes de vacunados y no vacunados, ninguno de los animales aretados murieron o presentaron signos respiratorios. La ausencia de mortalidad de los gorrinos con signos clínicos respiratorios, diarreicos o de desmedro pudo haberse a varios factores como: a) adopción de

estrictas medidas de bioseguridad y buenas medidas sanitarias en los corrales de recría que posiblemente repercutió en el desempeño de los lechones criados durante el estudio, b) los lechones que nacieron posterior al problema reproductivo observado en la maternidad pudieron haber nacido con altos niveles de anticuerpos contra el Circovirus porcino tipo 2, razón por la que ambos lotes de vacunados y no vacunados tuvieron un similar desempeño c) estos animales habrían ingresado a recría con un adecuado sistema inmunitario y d) las cepas del VPRRS endémico en los corrales de engorde y acabado sería de baja virulencia induciendo infección subclínica en el 97.6% (29/30) de los gorrinos del estudio. El grado de virulencia de la cepa del VPRRS presente y la endemnicidad de la infección, condición inmune del grupo etéreo afectado son factores que contribuyen en la presentación subclínica del PRRS (Van Reeth, 1997; Mateu y Diaz, 2008)

El análisis de las muestras correspondiente al tercer muestreo (136 días de edad) determinó DO entre 0.8 a 2.0 en la mayoría de los animales en estudio (Cuadro 2) indicando que en un lapso de 2.5 meses el 96.7% de los gorrinos se infectaron. Los anticuerpos inducidos por el VPRRS aparecen entre 7-9 días post infección, estos anticuerpos no tienen capacidad de neutralizar al virus. Los anticuerpos que neutralizan al virus aparecen aproximadamente a las 4 semanas post infección pero tampoco neutralizan al virus eficientemente (Lopez y Ososrio, 2004) por lo que el virus persiste en la circulación en presencia de los anticuerpos y podría constituir un riesgo para la difusión del virus desde el matadero.

La segunda toma de muestra a los 60 días se observa que en su mayoría de animales permanecen seronegativos y que luego mostraron ser positivos durante la última etapa de muestreo (96.67%) lo que sería reflejo de un alto nivel de seroconversión en la etapa de engorde; esto evidenciaría que el virus se encuentra circulante en el área de engorde y que los cerdos adquieren el virus durante esta etapa. Este sería un comportamiento normal en una granja endémica donde el PRRS es logrado controlar en la maternidad y la recría persistiendo generalmente en el área de engorde (Torremorell, 2004). La ausencia de signos clínicos es otro rasgo evidente en cerdos de esta edad pues se sabe que animales de mayor edad que son expuestos al virus presentan signos clínicos poco evidentes o se manifiestan cuando es presentado con otros agentes patógenos (Klinge et al., 2009) Posiblemente la inmunización de los animales contra el *Mycoplasma hyopneumoniae* y la vacunación contra el Circovirus porcino tipo 2 además de las medidas de bioseguridad estén jugando un importante rol en la protección de los animales contra los diversos agentes infecciosos como *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Streptococcus suis*, Circovirus porcino tipo 2, virus influenza, peste porcina clásica, coronavirus respiratorio y VPRRS, agentes infecciosos capaces de ocasionar severos

problemas respiratorios conocidos como el Complejo Respiratorio Porcino (Dee y Joo, 1997; Opriessing *et al.*, 2007).

El análisis estadístico indicó que la infección estuvo asociada a la edad (Cuadro 5), la prueba de análisis de varianza muestra que el comportamiento del modelo estudiado con un descenso del nivel de anticuerpos sigue un comportamiento cuadrático que es el que más se ajusta a la figura 1 (cuadro 4). Usualmente el VPRRS persiste en un ambiente donde existe flujo continuo de animales susceptibles como es el caso de animales de engorde y acabado. El monitoreo en este grupo de animales es importante para tomar medidas de control basadas en el despoblamiento y descanso de los corrales al menos por 30 días previa desinfección.

## **VI. CONCLUSIONES**

1. El VPRRS esta presente en las áreas de engorde y acabado en forma endémica en la granja porcina estudiada
2. La infección por el VPRRS no estuvo relacionado a problemas respiratorios en los animales este estudio, estando más vinculados a factores como la edad.
3. Los anticuerpos contra el PRRSV detectados en las primeras fases de muestreo fueron de origen maternal y su detección en la ultima fase fue producto de una infección activa por virus de campo.

## VII. LITERATURA CITADA

1. Albina E, Madec F, Carolet R, Torrison J. 1994. Immune response and persistence of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus in infected pigs and farm units. *Vet Rec* 134:567-573.
2. Albina E, Leforban Y, Baron T, Plana Duran JP, Vannier P. 1992. An enzyme Linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies to the porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *Ann Rech Vet* 23(2):167-176.
3. Albina E, Pirou L, Cariolet R, L'Hospitaler R. 1998. Immune responses in pigs infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Vet Immunol Immunopathol* 61:49-66.
4. Alegria Me, Rivera H, Manchego A. 1998. Evidencia del virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino de crianza tecnificada. *Rev Inv Pec IVITA (Perú)* 9(1):53-58.
5. Alfonso P, Frias-Lepoureau MT. 2003. PRRS in Central America and the Caribbean Region. En: Zimmerman J, Yoon K. ed. *PRRS Compendium*, 2<sup>d</sup> Edition. Iowa. p 217-219.
6. Arce E, Alegre J, Escudero E, Prain G, Sáenz J. 2007. Crianza de credos en zonas urbanas: diagnóstico y propuesta municipal del sistema de manejo en el distrito de Lurigancho Chosica, Lima (Perú). En: Castro G. *Porcicultura urbana y periurbana en ciudades de América Latina y el Caribe*. Perú: IPES-RUAF. p 25-33.

7. Bane D, Neuman E, Hall W, Harlin K, Slife L. 1992. PRRS associated with Furosin contamination of feed. *Am Assoc Prac Newsl* 4:22-23.
8. Bautista EM, Molitor TW. 1997. Cell-mediated immunity to porcine reproductive and respiratory syndrome virus in swine. *Viral Immunol* 10(2):83-94.
9. Bautista EM, Goyal SM, Yoon IJ, Hoo HS, Collins JE. 1993. Comparison of porcine alveolar macrophages and CL2621 for the detection of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus and anti-PRRS antibody. *J Vet Diagn Invest* 5(2):163-165.
10. Beltran-Alcrudo D, Lubroth J, Njeumi F, Pinto J, Klaus D, De La Roque S, Martin V. 2007. Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS). *FAO: Emergency prevention system. Focus on* 2:1-5.
11. Benfield DA, Nelson E, Collins JE, Harris L, Goyal SM, Robison D, Christianson WT, Morrison RB, Gorcyca D, Chladek D. 1992. Characterization of swine infertility and respiratory syndrome (SIRS) virus (isolate ATCC VR-2332). *J Vet Diagn Invest* 4: 127-133.
12. Benson JE, Yaeger MJ, Lager KM. 2000. Effect of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) exposure dose on fetal infection in vaccinated and nonvaccinated swine. *Swine health and Production* 8(4):155-160.
13. Bloemraad M, De Kluijver EP, Petersen A, Burkhardt GE, Wensvoort G. 1994. Porcine reproductive and respiratory syndrome: temperature and pH stability of Lelystad virus and its survival in tissue specimens from viraemic pigs. *Vet Microbiol* 42(4): 361-371.
14. Cancel-Tirado SM, Evans RB, Yoon KJ. 2004. Monoclonal antibody analysis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus epitopes associated with antibody-dependent enhancement and neutralization of virus infection. *Vet Immunol Immunopathol* 8(102):249-262.
15. Chang CC, Chung WB, Lin MW. 1993. Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) in Taiwan. I. viral isolation. *J Chin Soc Vet Sci* 19:268-276.
16. Cho J, Dee S. 2006. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Theriogenology* 66:655-662.
17. Choi C, Gustafson K, Chinsakchai S, Hill H, Molitor T. 1994. Heterogeneity of porcine alveolar macrophage subpopulations: immune functions and susceptibility to PEARs virus. *En: Proceeding of the international Pig Veterinary Society Congress.* p97.
18. Christianson TW, Joo HS. 1994. Porcine reproductive and respiratory syndrome: a review. *Swine Health and Production* 2:10-28.
19. Christianson WT, Choi CS, Collins JE, Molitor TW, Morrison RB, Joo HS. 1993. Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in mid-gestation sows and fetuses. *Can J Vet Res* 57:262-268.

20. Christianson WT, Collins JE, Piojan C, Joo HS, Benfield DA, McCullough SJ. 1991. Swine infertility and respiratory syndrome. *Pig Vet J* 27:9-12.
21. Christopher-Hennings J, Holler L, Benfield D, Nelson E. 2001. Detection and duration of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in semen, serum, peripheral blood mononuclear cells, and tissues from Yorkshire, Hampshire, and Landrace boars. *J Vet Diagn Invest* 13:133-142.
22. Christopher-Hennings J, Nelson E, Hines R, Nelson J, Swenson S, Zimmerman J, Chase C, Hill H, Yager M, Benfield D. 1995a. Persistence of reproductive and respiratory syndrome virus in serum and semen of adult boars. *J Vet Diagn Invest* 7:456-464.
23. Christopher-Hennings J, Nelson E, Nelson J, Hines R, Swenson S, Hill H, Zimmerman J, Katz J, Yager M, Chase C, Benfield D. 1995b. Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in boar semen by PCR. *J Clin Microbiol* 33:1730-1734.
24. Chung WB, Cheng TW, Lin MW, Yang PC. 1995. Application of porcine peripheral blood monocytes for the detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J Chin Soc Vet Sci* 21:308-315.
25. Ciacci-Zanella J, Trombetta C, Vargas I. 2004. Lack of evidence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection in domestic swine in Brazil. *Ciencia Rural* 34:449-455.
26. Conzelmann Kar-Klaus C, Visser N, Van Woensel P, Thiel HJ. 1993. Molecular Characterization of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus, a member of the Arterivirus Group. *Virology* 193:329-339.
27. Cruz M, Mogollón J, Rincon M, Peña N, Ruiz S, Lora A. 2006. Prevalencia serológica del síndrome reproductivo respiratorio porcino (PRRS) en cerdos de explotaciones extensivas de Colombia. *Rev Med Vet Zoot* 53:33-41.
28. Das P, Dinh P, Ansari I, de Lima M, Osorio F, Pattnaik A. 2010. The minor envelope glycoproteins GP2a and GP4 of porcine reproductive and respiratory syndrome virus interact with the receptor CD163. *J Virol* 84:1731-1740.
29. Dea S, Gagnon C, Mardassi H, Pizardeh B, Rogan D. 2000. Current Knowledge on the structural proteins of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus: comparison of the North American and European isolates. *Arch Virol* 145:659-688.
30. Dee S, Joo H. 1997. Strategies of control PRRS: a summary of field and research experiences. *Vet Microbiol* 55:347-353.
31. Dee S, Joo H, Henry S, Tokach L, Park B, Molitor T, Piojan C. 1996. Detecting subpopulations after PRRS virus infection in large breeding herds using multiple serologic test. *Swine Health Prod* 4:181-184.



32. Dee S, Otake S, Oliveira S, Deen J. 2009. Evidence of long distance airborne transport of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Vet Res* 40:39.
33. Dee S, Torremorell M, Thompson B, Dee J, Piojan C. 2005. An evaluation of thermo-assisted drying and decontamination for the elimination of porcine reproductive and respiratory syndrome virus from contaminated livestock transport vehicles. *Can J Vet Res* 69:58-63.
34. de Lima M, Ansari T, Das P, Martinez-Lobo F, Pattnaik A, Osorio F. 2009. GP3 is a structural component of the PRRSV type II (US) virion. *Virology* 390:31-36.
35. Delputte P, Naurwynck H. 2004. Porcine Arterivirus Infection of Alveolar Macrophages is mediated by Sialic Acid on the Virus. *J Virol* 7: 88094-8101.
36. Delputte P, Vanderheijden N, Naurwynck H, Pensaert M. 2002. Involvement of the Matrix protein in Attachment of porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus to a Heparinlike Receptor on Porcine Alveolar Macrophages. *J Virol* 76:4312-4320.
37. Dewey C, Charbonneau G, Carman S, Hamel A, Nayar G, Friendship R, Eernisse K, Swenson S. 2000. Lelystad-like strain of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) identified in Canadian swine. *Can Vet J* 41:493-494.
38. Done Sh, Paton Dj, White Me. 1996. Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS): A Review, with emphasis on Pathological, Virological and Diagnostic Aspects. *Br Vet J* 152:153 – 174.
39. Duan X, Narwynck H, Pensaert M. 1997. Effect of origin and state of differentiation and activation of monocytes/macrophages on their susceptibility to porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Arch Virol* 142:2483-2497.
40. Duan Z, Nauwynck HJ, Favoreel HW, Pensaert MB, 1998. Identification of a putative receptor for porcine reproductive and respiratory syndrome virus on porcine alveolar macrophages. *J Virol* 72:4520-4523.
41. Flores-Mendoza L, Hernandez J. 2010. Vacunas contra el virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRSV): escribiendo una historia. *Vet Méx* 41(2):139-159.
42. FAO. 2008. Peste Porcina Clasica. [Internet], [13 septiembre 2011]. Disponible en: <http://www.rlc.fao.org/es/prioridades/transfron/ppc/peru.htm>.
43. Fosberg R. 2005. Divergence time of porcine reproductive and respiratory syndrome virus subtypes. *Mol Biol Evol* 22:2131-2134.
44. Goyal S. 1993. Porcine reproductive and respiratory syndrome: Review article. *J Vet Diagn Invest* 5:656-664.
45. Greiner L, Stahly T, Stabel T. 2001. The effect of dietary soy genistein on pig growth and viral replication during a viral challenge. *J Anim Sci* 79:1272-1279.

46. Halbur P, Miller L, Paul P, Meng X, Huffman E, Andrews J. 1995. Immunohistochemical identification of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) antigen in the heart and lymphoid system of three-week-old colostrum-deprived pigs. *Vet Pathol* 32:200-204.
47. Halbur P, Paul P, Frey J, Landgraf K, Eernisse K, Meng X, Andrews J, Lum M, Rathje J. 1996a. Comparison of the antigen distribution of two US porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates with that of the Lelystad virus. *Vet Pathol* 33(2):159-170.
48. Halbur P, Paul P, Meng Xj, Lum M, Andrews J, Rathje J. 1996b. Comparative pathogenicity of nine US porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) isolates in a five-week-old cesarean-derived, colostrum-deprived pig model. *J Vet Diagn Invest* 8:11-20.
49. Halburg P. 2003. Factors that influence the severity of clinical disease. En: Zimmerman J, Yoon K. ed. *PRRS Compendium, 2<sup>d</sup> Edition*. Iowa. P 17-25.
50. Halburg P, Rothschild M, Thacker B, Meng X, Paul P, Bruna J. 1998. Differences in susceptibility of Duroc, Hampshire, and Meishan pigs to infection with a high virulence strain (VR2385) of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *J Anim Breed Genet* 115:181-189.
51. Hanada K, Suzuki Y, Nakane T, Hirose O, Gojobori t. 2005. The origin and evolution of porcine reproductive and respiratory syndrome viruses. *Mol Biol Evol* 22:1024-1031.
52. Haynes J, Halbur P, Sirinarumitr T, Paul P, Meng X, Huffman E. 1997. Temporal and morphologic characterization of the distribution of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) by in situ hybridization in pigs infected with isolates of PRRSV that differ in virulence. *Vet Pathol* 34:39-43.
53. Hermann J, Hoff S, Muñoz-Zanzi C, Yoon KJ, Roof M, Burkhardt A, Zimmerman J. 2007. Effect of temperature and relative humidity on the stability of infectious porcine reproductive and respiratory syndrome virus in aerosols. *Vet Res* 38:81-93.
54. Hill H. 1990. Overview and history of Mystery Swine Disease (Swine infertility/respiratory syndrome). *Proc Mystery Swine Disease Committee Meeting, Livestock Conservation Institute, Denver, Colorado*, p 29-31.
55. Hirose O, Shibata I, Kudou H, Samegai Y, Yoshizawa S, Ono Masaaki, Nishimura M, Hiroike T, Kageyama K, Sakano T. 1995. Experimental infection of SPF piglets with reproductive and respiratory syndrome (PRRS) viruses isolated from two farms. *J Vet Med Sci* 57(6):991-995.
56. Jackson GG, Cockcroft DP. 2002. *Clinical Examination of Farm Animals*. Oxford: Blackwell Science. p 251-266.

57. Jacobs C, Hermann R, Muñoz-Zanzi, Prickett R, Roof B, Yoon KJ, Zimmerman J. 2010. Stability of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus at ambient temperatures. *J Vet Diagn Invest* 22:257-260.
58. Joo H, Park B, Dee S, Piojan C. 1997. Indirect fluorescent IgM antibody response of pigs infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet Microbiol* 55:303-307.
59. Kalinowski EJ. 2000. Situacion de la Porcicultura Nacional: Análisis y Perspectivas. En: II Congreso Nacional de Porcicultura y Expo Porcino 2000. Lima. APPP. p 24.
60. Kim HS, Kwang J, Yoo HS, Frey ML. 1993. Enhanced replication of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in a homogeneous subpopulation of MA-104 cell line. *Arch Virol* 133:477-483.
61. Kimman T, Cornelissen I, Moormann R, Rebel J, Stockhofe-Zurwieden N. 2009. Challenges for porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccinology. *Vaccine* 27:3704-3718.
62. Klinge K, Vaughn E, Boof M, Bautista E, Murtaugh M. 2009. Age-dependent resistance to porcine reproductive and respiratory syndrome virus replication in swine. *Virology journal* 6:177.
63. Kranger S, Nielsen J, Bille-Hansen V, Botner A. 1998. Experimental inoculation of swine at various stages of gestation with a Danish isolate of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Vet Microbiol* 61:21-31.
64. Kuwahara H, Nunoya T, Tajima M, Kato A, Samejita T. 1994. An Outbreak of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome in Japan *J Vet Med Sci* 56(5): 901-909.
65. Labarque G, Nauwynck H, Van Reeth K, Pensaert M. 2000. Effect of cellular changes and onset of humoral immunity on the replication of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in the lungs of pigs. *J Gen Virol* 81:1327-1334.
66. Lager K, Mendeling W. 1995. Pathogenesis of in utero infection in porcine fetuses with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Can J Vet Res* 59:187-192.
67. Lamontagne L, Page C, Larochelle R, Magar R. 2003. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus persistence in blood, spleen, lymph nodes, and tonsils of experimentally infected pigs depends on the level of CD8<sup>high</sup> T cells. *Viral Immunol* 16:395-406.
68. Larochelle R, Magar R. 1995. Comparison of immunogold silver staining (IGSS) with two immunoperoxidase staining systems for the detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) antigens in formalin-fixed tissues. *J Vet Diagn Invest* 7:540-543.

69. Larochelle R, Mardassi H, Dea S, Magar R. 1996. Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in cell cultures and formalin-fixed tissues by in situ hybridization using a digoxigenin-labeled probe. *J Vet Diagn Invest* 8:3-10.
70. Le Portier M-F, Blanquefort P, Morvan E, Albina E. 1997. Results of a control programme for the porcine reproductive and respiratory syndrome in the French "Pays de la Loire" region. *Vet Microbiol* 55:355-360.
71. Lee S, Schommer S, Kleiboeker S. 2004. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus field isolates differ in vitro interferon phenotypes. *Vet Immunol Immunopathol* 102:217-231.
72. Lee C, Yoo D. 2006. The small envelope protein of porcine reproductive and respiratory syndrome virus possesses ion channel protein-like properties. *Virology* 355:30-43.
73. Loemba H, Mounir S, Mardassi H, Archambault D, Dea S. 1996. Kinetics of humoral immune response to the major structural proteins of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Arch Virol* 141:751-761.
74. López O, Osorio F. 2004. Role of neutralizing antibodies in PRRSV protective immunity. *Vet Immunol Immunopathol* 102:155-163.
75. López-Fuertes L, Domenech N, Alvarez B, Ezquerro A, Dominguez J, Castro J, Alonso F. 1999. Analysis of cellular immune response in pigs recovered from porcine respiratory and reproductive syndrome infection. *Virus Res* 64:33-42.
76. Loula T. 1992. United States seedstock industry results. *Am Assoc Swine Prac Newsl* 4:45-46.
77. Maes. 1997. Descriptive epidemiological aspects of the seroprevalence of five respiratory disease agents in slaughter pig from fattening herds. *Epidémiol Santé Anim* 31-32:05.B.19.
78. Magar R, Larochelle R. 2004. Evaluation of the presence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in pig meat and experimental transmission following oral exposure *Can J Vet Res* 68:259-266.
79. Magar R, Robinson Y, Dubuc C, Larochelle R. 1995. Isolation and experimental oral transmission in pig of a porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolate. *Adv Exp Med Biol* 380:139-144.
80. Mardassi H, Athanassios R, Mounir S, Dea S. 1994. Porcine reproductive and respiratory Syndrome Virus: Morphological, Biochemical and Serological Characteristics of Quebec Isolates Associated with Acute and Chronic outbreaks of Porcine reproductive and Respiratory Syndrome *Can J Vet Res* 58:55-64
81. Mardassi H, Massie B, Dea S. 1996. Intracellular synthesis, processing, and transport of proteins encoded by ORFs 5 to 7 of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Virol* 221:98-112.
82. Mateu E, Diaz I. 2008. The challenge of PRRS immunology. *Vet J* 177:345-351.

83. Meng X. 2000. Heterogeneity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus: implications for current vaccine efficacy and future vaccine development.
84. Meng X, Paul P, Morosow I, Halbur P. 1996a. A nested set of six or seven subgenomic mRNAs is formed in cells infected with different isolates of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J Gen Virol* 77:1265-1720.
85. Meng Xj, Paul Ps, Halbur Pg, Lum Ma. 1996b. Characterization of a high-virulence U.S. isolate of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in a continuous cell line ATCC CRL11171. *J Vet Diagn Invest* 8:374-381.
86. Mengeling W, Lager K, Vorwald A. 1994. Temporal characterization of transplacental infection of porcine fetuses with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Am J Vet Res* 55:1391-1398.
87. Mengeling W, Lager K, Vorwald A. 1995. Diagnosis of porcine reproductive and respiratory syndrome. *J Vet Diagn Invest* 7:3-16.
88. Meulemberg JM, Marcel M, Hulst EJ, Peter LJ, Den Besten A, De Kluyver EP, Wensvoort P, Moormann JM. 1993. Lelystad Virus Causative Agent of Porcine Epidemic Abortion and Respiratory Syndrome (PEARS), Is Related to LDV and EAV. *Virology* 192, 62–72.
89. Meulenber JJ. 2000. PRRSV, the virus. *Vet Res* 31:11-21.
90. Meulenber Jj, Meijer Ej, Moonen Pl, Den Besten A. 1994. Lelystad virus belongs to a new virus family, comprising lactate dehydrogenase-elevating virus, equine arteritis virus, and simian hemorrhagic fever virus. *Arch Virol* suppl 9: 441-448.
91. MINAG. 2010. Dinámica Agropecuaria 1997-2009. Perú: MINAG-OEEE. p 22-25.
92. Molina R, Chittick W, Nelson E, Christopher-Hennings J, Rowland R, Zimmerman J. 2008. Diagnostic performance of assays for the detection of anti-Porcine reproductive and respiratory syndrome virus antibodies in serum and muscle transudate (“mead juice”) based on samples collected under experimental conditions. *J Vet Diagn Invest* 20:735-736.
93. Molitor TW, Bautista EM, Choi CS. 1997. Immunity to PRRSV: Double-edged sword. *Vet Microbiol* 55:265-276.
94. Mortensen S, Stryhn H, Soegaard R. 2002. Risk factors for infection of sow herds with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *Prev vet Med* 53: 83-101.
95. Mousing J, Perming A, Mortensen S, Bøtner A, Willeberg P, 1997. A case control questionnaire survey of risk factors for porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) seropositivity in Danish swine herds. *Vet Microbiol* 55:323-328.
96. Murtaugh M, Elam MR, Kakach LT. 1995. Comparison of the structural protein coding sequences of the VR-2332 and Lelystad virus of the PRRS virus. *Arch Virol* 140:1451-1460.
97. Murtaugh M, Xiao Z, Zuckermann F. 2002. Immunological responses of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Viral Immunol* 15:533-547.

98. Mutaugh M, Stadejek T, Abrahante j, Lam T, C-Leun T. 2010. The ever-expanding diversity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Virus Research* 154:18-30.
99. Naurwynck HJ, Duan X, Favoreel HW, Van Oostveldt P, Pensaert MB, 1999. Entry of porcine reproductive and respiratory syndrome virus into porcine alveolar macrophages via receptor-mediated endocytosis. *J Gen Virol* 80:297-305.
100. Nelson AE, Christopher-Hennings EJ, Drew T, Wensvoort G, Collins J, Benfield DA. 1993. Differentiation of U.S. and European Isolates of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus by Monoclonal Antibodies. *Jour Clin Microbiol* p. 3184-3189.
101. Nelson E, Christopher-Hennings J, Benfield D. 1994. Serum immune response to the proteins of the porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *J Vet Diagn Invest* 6:410-415.
102. Neumann E, Kliebenstein J, Johnson , Mabry J., Bush E, Setzinger A, Green A, Zimmerman J. 2005. Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome on swine production in the United States. *JAVMA* 227:385-392.
103. Nielsen J, Botner A. 1997. Hematological and immunological parameters of 4 1/2-month old pigs infected with PRRS. *Vet Microbiol* 55:289-294.
104. Ohlinger V, Pesch S, Bischoff C. 2000. History, occurrence, dynamics and current status of PRRS in Europe. *Vet Res* 31:86-87.
105. OIE. 2004. Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino. En: *Manual de la OIE sobre animales Terrestres* p 862-876.
106. OIE . 2008. PRRS: the disease, its diagnosis, prevention and control. París: Reportes del grupo Ad Doc de la OIE en síndrome reproductivo y respiratorio porcino. 7 p.
107. Olin M, Batista L, Xiao Z, Dee S, Murtaugh M, Pijoan C, Molitor T. 2005. Gammadelta lymphocyte response to porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Viral Immunol* 18:490-499.
108. Opriessing T, Meng XJ, Halburg PG. 2007. Porcine circovirus tipe 2- associated disease: Update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis and intervention strategies. *J Vet Diagn Invest* 19:591-615.
109. Osorio F. 2010. PRRSV infections: a world-wide update. *Acta Scientiae Veterinariae* 38:269-275.
110. Osorio F, Galeota J, Nelson E, Brodesen B, Doster A, Wills R, Zuckerman F, Laegreid W. 2002. Passive transfer of virus-specific antibodies confers protection against reproductive failure induced by a virulent strain of porcine reproductive and respiratory syndrome virus establishes sterilizing immunity. *Virology* 302:9-20.
111. Otake S, Dee S, Rossow K, Joo H, Deen J, Molitor T, Pijoan C. 2002a. Transmission of porcine and respiratory syndrome virus by needles. *Vet Rec* 150:114-115.

112. Otake S, Dee S, Rossow K, Moon R, Piojan C. 2002b. Mechanical transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by mosquitoes, *Aedes vexans* (Meigen). *Can J Vet Res* 66:191-195.
113. Park B, Joo H, Dee S, Piojan C. 1995. Evaluation of an indirect fluorescent IgM antibody test for the detection of pigs with recent infection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J Vet Diagn Invest* 7:544-546.
114. Paton D, Brown I, Scott A, Done S, Edwards S. 1992. Isolation of a Lelystad virus-like agent from British pigs and scanning electron microscopy of infected macrophages. *Vet Microbiol* 33:195-201.
115. Perfumo C, Sanguinetti H. 2003. Argentina: Serological studies on PRRS virus. En: Zimmerman J, Yoon K. ed. *PRRS Compendium*, 2<sup>d</sup> Edition. Iowa. p 209-211.
116. Pitkin A, Deen J, Dee S. 2009a. Further assessment of fomites and personnel as vehicles for the mechanical transport and transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Can J Vet Res* 73:298-302.
117. Pitkin A, Deen J, Otake S, Moon R, Dee S. 2009b. Further assessment of houseflies (*Musca domestica*) as vectors for the mechanical transport and transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus under field conditions. *Can J Vet Res* 73:91-96.
118. Prieto C, Sanchez R, Martin-Rillo S, Suarez P, Simaro I, Solana A, Castro J. 1996. Exposure of gilts in early gestation to porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet Rec* 138:536-539.
119. Ramirez E. 2005. Una actualización sobre el síndrome reproductivo y respiratorio porcino, su situación nacional y avances en investigación. *Avances en Ciencias veterinarias* 20:12-31.
120. Robert F, Mathonnet J, Auvigne V, Riaucourt A, Laval A. 1993. Le syndrome dysgénésique et respiratoire porcin: repercussions cliniques, sérologiques et techniques en Bretagne. *Journées rech porcine en France* 25:355-360.
121. Rojas F. 2010. Proyecto de erradicación del síndrome respiratorio y reproductivo del cerdo (PRRS) en Chile. *Memorias del X congreso Nacional de Producción Porcina*, Mendoza, Argentina. p 181-186.
122. Rossow K D. 1998. Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome. *Vet Pathol* 35:1-20.
123. Rossow K, Bautista E, Goyal S, Molitor T, Murtaugh M, Morrison R, Benfield D, Collins J. 1994. Experimental porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in one-, four-, and 10-week-old pigs. *J Vet Diagn Invest* 6:3-12.
124. Rossow K, Collins J, Goyal S, Nelson E, Christopher-Hennings J, Benfield D. 1995. Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in gnotobiotic pigs. *Vet Pathol* 32:361-373.

125. Rossow K, Shivers J, Rossow K, Shivers J, Yeske P. 1999. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in neonatal pigs characterized by marked neurovirulence. *Vet Rec* 144:444-448.
126. Rossow KD, Benfield DA, Goyal SM. 1996 Chronological immunohistochemical detection and localization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in gnotobiotic pigs. *Vet Pathol* 33:551-556.
127. Rowland R, Robinson B, Stefanick J, Kim T, Guanghua L, Benfield D. 2001. Inhibition of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by interferon-gamma and recovery of virus replication with 2-aminopurine. *Arch Virol* 146:539-555.
128. Samsom J, De Bruin T, Voermans J, Meulemberg J, Pol J, Bianchi A. 2000. Changes of leukocyte phenotype and function in the broncho-alveolar lavage fluid of pig infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus: a role for CD8(+) cells. *J Gen Virol* 81:497-505.
129. SENASA 2009. Convenios Nacionales Vigentes Suscritos por SENASA [Internet], [14 julio 2009]. Disponible en: <http://www.senasa.gob.pe/senasa/wp-content/uploads/jer/CONVENIOS/Convenios%20nacionales%20vigentes%20al%20al%2006%20e%20nero%202013.pdf>.
130. Shi M, Tsan-Yuk T, Hon CC, Hui KH, Faaberg K, Weennblom T, Murtaugh m, Stadejek T, Leung CC. 2010. Molecular epidemiology of PRRSV: A phylogenetic perspective. *Virus Research* 154:7-17.
131. Shibata I, Mori M, Uruno K. 1998. Experimental infection of maternally immune pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *J Vet Med Sci* 60(12):1285-1291.
132. Shirai J, Kanno T, Tsuchiya Y, Mitsubayashi S, Seki R. 2000. Effects of Chlorine, Iodine, and Quaternary Ammonium Compound Disinfectants on Several Exotic Disease Viruses *J. Vet Med Sci* 62(1): 85-92.
133. Sierra N, Ramirez R, Mota D. 2000. Aislamiento del virus de PRRS en México: estudio clínico, serológico y virológico. *Arch Med Vet* 32(1):1-9.
134. Snijder E, Meulemberg J. 1998. The molecular biology of arteriviruses. *J Gen Virol* 79:961-979.
135. Suárez P. 2000. Ultraestructural pathogenesis of the PRRS virus. *Vet Res* 31:47-55.
136. Sur J, Doster A, Christian J, Galeota R, Wills R, Zimmerman J, Osorio F. 1997. Porine reproductive and respiratory syndrome virus replicates in testicular germ cell, alters spermatogenesis and induces germ cell death by apoptosis. *J Virol* 71(12):9170-9179.



137. Tanawongnuwech R, Thacker E, Halbur P. 1998. Influence of pig age on virus titer and bactericidal activity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV)-infected pulmonary intravascular macrophages (PIMs). *Vet Microbiol* 63:177-187.
138. Tepstra C, Wensvoort G, Pol J. 1991. Experimental reproduction of porcine epidemic abortion and respiratory syndrome (mystery swine disease) by infection with lelystad virus: Koch's postulated fulfilled. *Vet Q* 13(3):131-136.
139. Thacker. 2003. Clinical Manifestation of PRRS virus. En: Zimmerman J, Yoon K. ed. *PRRS Compendium*, 2<sup>d</sup> Edition. Iowa. p7-12.
140. Thacker E. 2004. The influence of maternal antibody against porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection and the effect of a killed PRRSV vaccine in increasing the level of maternal antibody-NB#03-046. Research report. Iowa University.
141. Thursfield M. 1990. *Epidemiologia Veterinaria*. Editorial Acribia. España. 1990.
142. Torremorell M. 2004. Aspectos prácticos del control de PRRS. *Anaporc* 2:43-47.
143. Trelles PA. 2006. Porcinosis. En Guerra GH. *Agricultura Peruana* 2<sup>a</sup> ed. Lima Perú: ASPA. p463-466.
144. Van Alstine W, Kanitz C, Stevenson W. 1993. Time and temperature survivability of PRRS virus in serum and tissues. *J Vet Diagn Invest* 5:621-622.
145. Van Breedam W, Delputte P, Van Gorp H, Misinzo G, Vanderheijden N, Duan X, Nauwynck J. 2010. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus entry into the porcine macrophage. *J Gen Virol* 91:1659-1667.
146. Van Der Liden I, Voermans J, Van Der Linde-Bril E, Bianchi A, Steverink P. 2003. Virological kinetics and immunological response to a porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection of pigs at different ages. *Vaccine* 21:1952-7.
147. Van Reeth K. 1997. Pathogenesis and clinical aspects of a respiratory porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Vet Microbiol* 55:223-230.
148. Van Reeth K, Narwynck H, Pensaert M. 1996. Dual infections of feeder pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome virus followed with porcine respiratory coronavirus on swine influenza virus. A clinical and virological study. *Vet Microbiol* 48:325-335.
149. Van Reeth K, Labarque G, Narwynck H, Pensaert M. 1999. Differential production of proinflammatory cytokines in the pig lung during different respiratory virus infections: correlations with pathogenicity. *Res Vet Sci* 67:47-52.
150. Vanderheijden N, Delputte P, Favoreel H, Vanderkerckhove J, Van Dame J, Van Woensel P, Narwynck H. 2003. Involvement of Sialoadhesin in Entry of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus into Porcine Alveolar Macrophages. *J Virol* 77:8207-8215.

151. Vidal OI, De La Cruz C, Rivera H. 1999. El virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino y neumonías en gorrinos de granjas porcinas tecnificadas. *Rev Inv Vet Perú* 10(1):18-25.
152. Weigel R, Firkins L, Scherba G. 2000. Prevalence and risk factors for infection with porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in swine herds in Illinois (USA). *Vet Res* 31:87-88.
153. Wensvoort G. 1993. Lelystad virus and the porcine epidemic abortion and respiratory syndrome. *Vet Res* 24, 117-124.
154. Wills R, Doster A, Galeota J, Sur J, Osorio F. 2003. Duration of infection and proportion of pigs persistently infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J Clin microbiol* 41:58-62.
155. Wills R, Zimmerman J, Swenson S, Yoon K, Hill H, Bundy D, Mcginley M. 1997a. Transmission of PRRSV by direct, close, or indirect contact. *Swine Health and Production*. 5(6):213-218.
156. Wills R, Zimmerman J, Yoon K, Swenson S, Hoffman L, Mcginley M, Hill H, Platt K. 1997b. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: routes of excretion. *Vet Microbiol* 57:69-81.
157. Wills R, Zimmerman J, Yoon K, Swenson S, Mcgliney M, Hill H, Platt K, Christopher-Hennings J, Nelson E. 1997c. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: A persistent infection. *Vet Microbiol* 55:231-240.
158. Wills R, Osorio FA, Doster AR. 2000. Suceptibility of selected non swine species to infection with PRRS virus. *Proc Annu Meet Am Assoc Swine Pract* p 411-413.
159. Wissink E, Kroese M, Maneschijn B, Meulember J, van Rijn J, Pijeswijk P, Rottier P. 2004. Significance of the oligosaccharides of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus glycoproteins GP2a and GP5 for infectious virus production. *J Gen Virol* 85:3715-3723.
160. Wu W, Fang Y, Farwell R, Steffen-Bien M, Rowland R, Christopher-Hennings J, Nelson E. 2001. A 10-kDa Structural protein of porcine reproductive and respiratory syndrome virus encoded by ORF 2b. *Virology* 287:183-191.
161. Wu W, Fang Y, Rowland R, Lawson S, Christopher-Hennings J, Yoon K, Nelson E. 2005. The 2b protein as minor structural component of PRRSV. *Virus Res* 114:177-181.
162. Yamane I, Kure K, Ishikawa H, Takagi M, Miyazaki A, Suzuki T, Shigahara T, Kubo M, Kobayashi H. 2009. Estimation of economic loss due to porcine reproductive and respiratory syndrome in Japan. *Proceedings of the 12<sup>th</sup> Symposium of the International Society for Veterinary Epidemiology and Economics*, Durban, South Africa. p 206.

163. Yoon K. 2002. Porcine reproductive and respiratory syndrome: virology. En: Trends in emerging viral infections of swine
164. Yoon K, Christopher-Hennings J, Nelson E. 2003. PRRS Diagnosis. En: Zimmerman J, Yoon K. ed. PRRS Compendium, 2<sup>d</sup> Edition. Iowa. p 59-68.
165. Yoon K, Zimmerman J, Swenson S, Swenson S, Mcginley M, Eermisse K, Brevik A, Rhinehart L, Frey M, Hill H, Platt K. 1995. Characterization of the humoral immune response to porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infection. J Vet Diagn Invest 7:305-312.
166. Zimmerman J. 2002. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: Epidemiology. In: Trends in emerging viral infections of swine. Iowa State Press. p 331-337.
167. Zimmerman J. 2003. PRRS: Epidemiology and ecology. En: Zimmerman J, Yoon K. ed. PRRS Compendium, 2<sup>d</sup> Edition. Iowa. p27-50.
168. Zimmerman J, Yoon K, Pirtle E, Wills R, Sanderson T, Mcginley M. 1997. Studies of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infection in avian species. Vet Microbiol 55:329-336.

## **VIII. ANEXOS**

Anexo 1. Densidades ópticas de anticuerpos obtenidas mediante la prueba de ELISA en las tres etapas de muestreo.

SEXO	IDENTIF	DO		
		33 d	61 d	136d
M	cerdo 1	0.21	0.08	0.57
H	cerdo 2	0.14	0.12	1.31
H	cerdo 3	0.07	0.06	1.27
H	cerdo 4	0.24	0.09	0.86
M	cerdo 5	0.25	0.12	0.75
M	cerdo 6	0.23	0.04	1.14
H	cerdo 7	0.28	0.09	1.53
H	cerdo 8	0.11	0.07	1.34
H	cerdo 9	0.17	0.08	1.08
M	cerdo 10	0.06	0.06	1.10
H	cerdo 11	0.44	0.11	1.51
H	cerdo 12	0.32	0.11	0.48
H	cerdo 13	0.94	0.28	0.33
M	cerdo 14	0.33	0.07	1.47
H	cerdo 15	0.05	0.07	1.35
M	cerdo 16	0.36	0.16	1.25
M	cerdo 17	0.07	0.08	1.23
H	cerdo 18	0.46	0.12	1.37
M	cerdo 19	1.00	0.42	1.37
H	cerdo 20	0.36	0.12	0.88
H	cerdo 21	0.20	0.15	0.95
H	cerdo 22	0.18	0.07	0.89
H	cerdo 23	0.10	0.07	1.29
M	cerdo 24	0.09	0.07	0.93
H	cerdo 25	0.24	0.07	0.85
H	cerdo 26	0.10	0.07	1.02
H	cerdo 27	0.15	0.07	1.23
H	cerdo 28	0.37	0.13	1.25
H	cerdo 29	0.46	0.17	1.24
H	cerdo 30	0.34	0.12	1.08

Anexo 2. Distribución de coeficientes M/P obtenidas mediante la prueba de ELISA en las tres etapas de muestreo.

sexo	IDENTIF	M/P		
		32 d	61 d	136d
M	cerdo 1	0.20	0.01	0.69
H	cerdo 2	0.11	0.07	1.72
H	cerdo 3	0.00	-0.02	1.66
H	cerdo 4	0.24	0.03	1.09
M	cerdo 5	0.25	0.07	0.94
M	cerdo 6	0.23	-0.03	1.49
H	cerdo 7	0.29	0.03	2.02
H	cerdo 8	0.07	0.00	1.76
H	cerdo 9	0.14	0.02	1.40
M	cerdo 10	0.00	-0.01	1.43
H	cerdo 11	0.51	0.06	1.99
H	cerdo 12	0.35	0.06	0.58
H	cerdo 13	1.21	0.29	0.36
M	cerdo 14	0.37	0.01	1.95
H	cerdo 15	-0.02	0.01	1.78
M	cerdo 16	0.40	0.13	1.63
M	cerdo 17	0.01	0.02	1.61
H	cerdo 18	0.55	0.07	1.80
M	cerdo 19	1.29	0.49	1.81
H	cerdo 20	0.40	0.08	1.13
H	cerdo 21	0.19	0.11	1.22
H	cerdo 22	0.16	0.01	1.14
H	cerdo 23	0.05	0.00	1.70
M	cerdo 24	0.03	0.00	1.20
H	cerdo 25	0.24	0.01	1.09
H	cerdo 26	0.05	0.00	1.31
H	cerdo 27	0.12	0.00	1.60
H	cerdo 28	0.42	0.09	1.64
H	cerdo 29	0.54	0.15	1.62
H	cerdo 30	0.38	0.07	1.41

Anexo 3.: Animales seropositivos mediante la prueba de ELISA en las tres etapas de muestreo.

SEXO	IDENTIF	ESTADO		
		32 d	61 d	136 d
M	cerdo 1	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
H	cerdo 2	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
H	cerdo 3	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
H	cerdo 4	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
M	cerdo 5	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
M	cerdo 6	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
H	cerdo 7	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
H	cerdo 8	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
H	cerdo 9	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
M	cerdo 10	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
H	cerdo 11	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
H	cerdo 12	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
H	cerdo 13	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
M	cerdo 14	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
H	cerdo 15	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
M	cerdo 16	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
M	cerdo 17	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
H	cerdo 18	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
M	cerdo 19	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
H	cerdo 20	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
H	cerdo 21	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
H	cerdo 22	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
H	cerdo 23	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
M	cerdo 24	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
H	cerdo 25	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
H	cerdo 26	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
H	cerdo 27	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
H	cerdo 28	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
H	cerdo 29	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
H	cerdo 30	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO

