

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Escuela Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia

CENTINELIZACIÓN DE PESTE PORCINA CLÁSICA, MEDIANTE
EL PLAN DE CONTROL Y ERRADICACIÓN OFICIAL
EN PREDIOS DE CRIANZA FAMILIAR
– CALANA 2019

TESIS

Presentada por:

Bach. Ruddi Alexander Ayma Yujra

Para optar el Título Profesional de:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

TACNA – PERÚ

2021

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN DE TACNA

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Escuela Profesional de Medicina Veterinaria Y Zootecnia

**CENTINELIZACIÓN DE PESTE PORCINA CLÁSICA, MEDIANTE EL
PLAN DE CONTROL Y ERRADICACIÓN OFICIAL EN PREDIOS DE
CRIANZA FAMILIAR – CALANA 2019**

SUSTENTADA Y APROBADA EL 20 DEL AGOSTO DEL 2021 SIENDO EL
JURADO CALIFICADOR:


PRESIDENTE:


Msc. CESARIO SEBASTIAN CRUZ ANCHAPURI

SECRETARIO:


Msc. LUIS ADOLFO RAMOS MAMANI

VOCAL:


Msc. TEODORA JULIA CONDORI SILVESTRE

ASESOR:


Msc. LUIS ALBERTO BARRIOS MOQUILLAZA

DEDICATORIA

A mis padres, especialmente a mi madre por su apoyo, comprensión, cariño y motivación que me brindó para salir adelante y poder cumplir mis metas.

A mis hermanos Angel y Jennifer por su apoyo incondicional y estar siempre presentes a mi lado.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann y a la escuela académico profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia por haberme dado la oportunidad de formar parte de estas, y permitirme ser un profesional.

A mi asesor el Dr. Luis Alberto Barrios Moquillaza por su constante apoyo y su paciencia para la realización del presente trabajo de investigación.

A mi Co-asesor de tesis el Dr. Oscar Himler Pérez Chávez por sus enseñanzas, su apoyo y guiarme durante el desarrollo del presente trabajo de investigación.

Al Servicio Nacional de Sanidad Agraria por brindarme las facilidades para la realización del presente trabajo de investigación, principalmente al área de sanidad animal.

A mis amigos y compañeros que de una u otra manera colaboraron en la realización del presente trabajo de investigación.

CONTENIDO

<i>DEDICATORIA</i>	iii
<i>AGRADECIMIENTOS</i>	iv
RESUMEN	xiii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA	3
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	4
1.3. JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA.....	5
1.4. OBJETIVOS	7
1.4.1 Objetivo general.....	7
1.4.2. Objetivos específicos.....	7
CAPÍTULO II : MARCO TEÓRICO	8
2.1. ANTECEDENTES.....	8
2.2. BASE TEÓRICA	12

2.2.1. Historia	12
2.2.2. Sinonimia	14
2.2.3. Etiología.....	14
2.2.4. Morfología.....	15
2.2.5. Epidemiología.....	16
2.2.6. Resistencia	19
2.2.7. Período de incubación.....	20
2.2.8. Patogenia y cuadro clínico.....	20
2.2.9. Diagnóstico.....	25
2.2.10. Tratamiento	30
2.2.11. Prevención.....	30
2.2.12. Monitoreo de PPC (vigilancia activa).....	31
2.2.13. Atención de sospecha y ocurrencia de PPC (Vigilancia Pasiva)	34
2.2.14. Acciones ante una sospecha de PPC (vigilancia pasiva).	36
2.2.15. Resultado de laboratorio positivo a la enfermedad de PPC y establecimiento de cuarentena.....	37
2.2.16. Procedimiento para el control de la enfermedad	37

2.2.17. Determinación del estatus de país, zona o compartimiento libre de PPC.....	39
2.2.18. Centinelización	40
2.3. BASE CONCEPTUAL.....	43
CAPÍTULO III : MATERIAL Y MÉTODO	45
3.1. MATERIAL.....	45
3.1.1. Ubicación geográfica y temporal	45
3.1.2. Unidad de estudio.....	46
3.1.3. Población y muestra	46
3.1.4. Criterio de inclusión y exclusión	47
3.2. MÉTODO.....	48
3.2.1. Tipo y diseño de la investigación.....	48
3.2.2. Método de la investigación.	49
3.2.3. Recolección de datos	52
3.2.4. Análisis de los datos	63
CAPÍTULO IV : RESULTADOS	65
4.1. MUESTRAS DE SUERO	68

4.1.1. Detección de anticuerpos contra Peste Porcina Clásica, en la introducción de los porcinos centinelas a los predios de estudio (Día 0).	65
4.1.2. Detección de anticuerpos contra Peste Porcina Clásica, considerado como el primer período máximo de incubación del virus (Día 15).....	66
4.1.3. Detección de anticuerpos contra Peste Porcina Clásica, considerado como el segundo período máximo de incubación del virus (Día 30).....	67
4.1.4. Detección de anticuerpos contra Peste Porcina Clásica, considerado como el tercer período máximo de incubación del virus (Día 45).....	68
4.2. MUESTRAS BIOLÓGICAS.....	69
4.2.1. Inmunofluorescencia.....	69
4.2.2. Inmunoperoxidasa	71
CAPÍTULO V : DISCUSIÓN.....	73
CONCLUSIONES	77
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79
ANEXOS.....	88

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Esquema resumido del virus causante de la Peste Porcina Clásica con sus proteínas estructurales 16
- Figura 2.** Estado de países de América dentro del Programa de erradicación de peste porcina clásica de las américas 17
- Figura 3.** Esquema de muestreo serológico 50
- Figura 4.** Esquema de las medidas tomadas en el control y erradicación del brote de PPC. 57

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Trastornos esperados según el momento de la infección por PPC en las cerdas gestantes.....	24
Tabla 2. Animales muestreados por monitoreo	32
Tabla 3. Niveles de anticuerpos contra el virus de la Peste Porcina Clásica en el día 0, de las granjas A y B, mediante la prueba de ELISA de bloqueo.	65
Tabla 4. Niveles de anticuerpos contra el virus de la Peste Porcina Clásica en el día 15, de las granjas A y B, mediante la prueba de ELISA de bloqueo.	66
Tabla 5. Niveles de anticuerpos contra el virus de la Peste Porcina Clásica en el día 30, de las granjas A y B, mediante la prueba de ELISA de bloqueo.	67

Tabla 6. Niveles de anticuerpos contra el virus de la Peste Porcina Clásica en el día 45, de las granjas A y B, mediante la prueba de ELISA de bloqueo.	68
Tabla 7. Detección de antígeno para pestivirus mediante la prueba de Inmunofluorescencia directa, a los 45 días post ingreso de los animales a los predios afectados.	70
Tabla 8. Detección de Antígeno de Peste Porcina Clásica mediante la prueba de Inmunoperoxidasa, a los 45 días post ingreso de los animales a los predios afectados.....	71

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.	Densidad óptica y porcentaje de bloqueo de la prueba de ELISA de bloqueo para Peste Porcina Clásica en el día 0.....	89
Anexo 2.	Densidad óptica y porcentaje de bloqueo de la prueba de ELISA de bloqueo para Peste Porcina Clásica en el día 15	90
Anexo 3.	Densidad óptica y porcentaje de bloqueo de la prueba de ELISA de bloqueo para Peste Porcina Clásica en el día 30	91
Anexo 4.	Densidad óptica y porcentaje de bloqueo de la prueba de ELISA de bloqueo para Peste Porcina Clásica en el día 45.....	92
Anexo 5.	Detección de antígeno de Peste Porcina Clásica mediante la prueba de Inmunoperoxidasa, a los 45 días	93

RESUMEN

El trabajo de investigación se realizó en el distrito de Calana, región de Tacna, como respuesta a la presencia de brotes de Peste Porcina Clásica (PPC) en el año 2019; el objetivo del estudio fue determinar la presencia de anticuerpos mediante el programa de centinelización, para ello se utilizaron 40 muestras de sangre y 30 muestras de órganos (Amígdalas, Ganglios Linfáticos, Bazo), provenientes de porcinos centinelas a los 0,15,30,45 días de introducción a los predios. Las muestras colectadas fueron analizadas en la unidad del centro de diagnóstico de sanidad animal (UCSDA), mediante las pruebas de ELISA de bloqueo, Inmunofluorescencia directa (IFD) e Inmunoperoxidasa directa (IPD). Los resultados indican que en los 4 muestreos serológicos realizados el, 100% de la población centinela no presentaron anticuerpos post infección, asimismo las pruebas de IFD e IPD no detectaron presencia del virus en los órganos muestreados, dando como resultado un porcentaje de 0% a la presencia del virus de PPC, concluyendo que el programa de centinelización fue efectivo.

Palabras clave: Peste Porcina Clásica, Centinelización, Porcino centinela, ELISA.

ABSTRACT

The research work was carried out in the district of Calana, Tacna region, in response to the presence of outbreaks of Classic Swine Fever (CSF) in 2019; The objective of the study was to determine the presence of antibodies through the sentinelization program, for which 40 blood samples and 30 organ samples (tonsils, lymph nodes, spleen) were used, from sentinel pigs at 0.15.30, 45 days of introduction to the premises. The collected samples were analyzed in the unit of the animal health diagnosis center (UCSDA), using the blocking ELISA, direct immunofluorescence (IFD) and direct immunoperoxidase (IPD) tests. The results indicate that in the 4 serological samplings carried out, 100% of the sentinel population did not present post-infection antibodies, also the IFD and IPD tests did not detect the presence of the virus in the sampled organs, resulting in a percentage of 0% at the presence of the CSF virus, concluding that the sentinelization program was effective.

Keywords: Classical Swine Fever, Sentinelization, Sentinel pigs, ELISA.

INTRODUCCIÓN

La Peste Porcina Clásica (PPC), conocida como cólera porcino, es una enfermedad viral tipo ARN muy contagiosa, la cual provoca grandes pérdidas en la producción porcina de traspatio e industrial, por ello es considerada una de las enfermedades más grave del sector porcino.

Esta enfermedad no sólo amenaza la seguridad alimentaria del país, sino que también restringe severamente el comercio internacional de carne de cerdo y sus derivados.

La alternativa más económica para combatir la Peste Porcina Clásica es la prevención, y su control implica estrictas medidas sanitarias que incluyen el uso de vacunas, las cuales deben ser prescindidas a la hora de intentar erradicar la enfermedad de un territorio, ya que no impiden la existencia de animales asintomáticos portadores del virus, también conocidos como los persistentemente infectados (PI). Para lograr controlar y erradicar esta enfermedad se requiere del esfuerzo conjunto de toda la cadena productiva (Laboratorios de producción de vacunas, laboratorios de diagnóstico, servicios veterinarios, industria porcina y porcicultores) y coordinación

regional entre países para lograr buenos resultados sostenibles. Para ello, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2008) actualmente coordina “el Plan Continental de Erradicación de la PPC en las Américas, promovido con el fin de alcanzar esta meta en la región para el 2020”.

El estudio tuvo como objetivo determinar la ausencia de la enfermedad para contribuir a establecer el estatus sanitario del virus de la Peste Porcina Clásica en nuestra región, para ello se introdujeron porcinos centinelas en predios de crianza familiar posterior a un brote de PPC, los cuales fueron muestreados serológicamente en diferentes períodos, utilizando las pruebas de ELISA de bloqueo, inmunofluorescencia e Inmunoperoxidasa respectivamente.

Como resultados se obtuvo que la población centinela no presentó anticuerpos post infección, así como también se logró descartar la presencia del virus (0%) de la Peste Porcina Clásica mediante las pruebas de IFD e IPD. Concluyendo así que no existe circulación viral en los predios donde se realizó el estudio.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

El sector porcino de nuestro país se ve afectado por una serie de enfermedades, destacando por su impacto la Peste Porcina Clásica (PPC), también conocido como Cólera Porcino, la cual es producida por un pestivirus perteneciente a la familia flaviviridae, el cual se caracteriza por su rápida propagación y contagio y por sus altos niveles de morbilidad y mortalidad (100%). Según la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), la enfermedad constituye uno de los mayores problemas de salud animal a nivel mundial y se ha convertido en una enfermedad de notificación obligatoria, en el Perú se encuentra normada por la Resolución Jefatural N° 271-2008-AG-SENASA. En la actualidad en nuestro país según la Subdirección de Análisis de Riesgo y Vigilancia Epidemiológica (SARVE) de la dirección de Sanidad Animal del SENASA se han reportado brotes de PPC en el año 2004 con la ocurrencia de 27 brotes de Peste Porcina Clásica, en el 2005 se presentaron 13 brotes, en el 2006 se

presentó 25 brotes, en el 2007 se presentó 59 brotes y en el 2008 ,15 brotes de PPC; estas cifras son relativamente bajas debido a la subnotificación existente y al corto período que el SENASA viene organizando el Sistema Integrado de Gestión de Sanidad Animal (SIGSA).

La estrategia básica utilizada para lograr controlar y erradicar la Peste Porcina Clásica, es lograr una cobertura amplias y sostenidas de vacunación de la población porcina , conforme a los estudios realizados acerca de la caracterización de esta, además de la ejecución de las actividades de vigilancia epidemiológica, control estricto del tránsito interno y movimiento de porcinos, así también como sus productos y subproductos, complementado con el plan de difusión y capacitación de los usuarios.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿El plan de control y erradicación oficial realizado para Peste Porcina Clásica fue eficiente?

1.3. JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

Según Moening (2003). Menciona que “La Peste Porcina Clásica (PPC) es una enfermedad multisistémica, contagiosa y a menudo fatal, que afecta a los cerdos domésticos y silvestres en forma aguda, crónica y subclínica. La OIE en el 2004 la considera una enfermedad de notificación obligatoria por ser muy contagiosa y de gran impacto económico”.

Van Oirschot (2003) afirma que “La PPC ha sido erradicada de países como Estados Unidos, Inglaterra, Holanda, Australia y Chile entre otros, pero está presente en la mayoría de países de América Latina”.

En la actualidad el departamento de Tacna se encontraba con un silencio epidemiológico de aproximadamente 5 años, provocando una alarma en las autoridades correspondientes la aparición de un predio positivo a PPC, efectuando inmediatamente las medidas necesarias para el control y erradicación de la enfermedad según la Resolución Jefatural N° 019-2011-AG-SENASA en dicho predio.

El objetivo del estudio fue determinar la presencia o no de la enfermedad en predios sometidos a un plan de control y erradicación de la enfermedad por SENASA TACNA, mediante el uso de animales centinelas, así como también proporcionará información para entidades y/o programas futuros,

el cual demostrará la eficacia del plan de control y erradicación que se realizó en dicho predio; así también proporcionará información para la realización de otros tipos de investigación tomando como referencia el presente trabajo de investigación.

En la ciudad de Tacna no existen estudios relacionados al tema de uso de animales centinelas para medir el estado sanitario de predios sometidos a un plan de control y erradicación, por lo mencionado anteriormente el presente trabajo se ve justificado y fundamentado para su ejecución; además que validaría la metodología de centinelización como parte del programa de Prevención, Control y Erradicación de Peste Porcina Clásica.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo General

- Determinar los anticuerpos en un proceso de centinelización para Peste Porcina Clásica en predios posterior a un brote de PPC sometido a un plan de control y erradicación oficial.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Determinar anticuerpos contra Peste Porcina Clásica en porcinos centinelas a los 0, 15, 30 y 45 días post introducción a predios sometidos a un plan de control y erradicación oficial.
- Determinar la eficiencia del plan de control y erradicación Oficial para Peste Porcina Clásica.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES

A nivel internacional se realizaron las siguientes investigaciones referentes al tema en estudio:

En el país de México se realizó una investigación titulada: “Evaluación del programa de centinelización de la Fiebre Porcina Clásica en 83 granjas del estado de Jalisco de mayo de 1995 a febrero de 1996”, en donde el objetivo del trabajo fue el de evaluar los resultados obtenidos del programa de centinelización para la erradicación de la FPC, para ello se buscó información con la Secretaría de Agricultura Ganadería y Desarrollo Rural (SAGAR) y la Unión Regional de Porcicultores de Jalisco (URPJ); la metodología usada en la centinelización fue seleccionar 1 a 3 granjas por municipio participante, y en cada granja se seleccionaron 8 animales sin vacunar (centinelas), adicionalmente 2 animales vacunados que sirvieron de controles positivos (10 en total), al tercer mes se dejó un segundo grupo repartidos igual que el anterior grupo, se llevaron a cabo 4 muestreos que

comprendieron los 2 grupos de animales, así el primer y segundo muestreo corresponden al 1er grupo y el tercero y cuarto muestreo corresponden al 2do grupo. los resultados que obtuvieron indican que de un total de 83 granjas en el estado de Jalisco en la fase de centinelización, se muestrearon 2 377 animales, de los cuales resultaron 2 355 negativos, 11 sospechosos y 11 positivos; concluyendo como un éxito la fase de centinelización, lo cual permitió a las autoridades sanitarias tomar la decisión de pasar a la fase de erradicación en el estado de Jalisco (Bañales et al, 1996).

En el país de Guatemala se realizó la investigación titulada “Determinación de la presencia de Peste Porcina Clásica (PPC) en la porcicultura de Guatemala en el año 2016, por medio de la prueba de reacción de la cadena de la polimerasa (PCR) en el laboratorio de referencia de sanidad animal LARRSA”. En donde tiene como objetivo contribuir a determinar el estatus sanitario de PPC en Guatemala, demostrando la ausencia o presencia de circulación viral de PPC mediante la técnica de Reacción en Cadena de Polimerasas (PCR), la metodología empleada en esta investigación fue muestrear a cerdas de descarte y lechones retrasados, y resto de animales en crecimiento de mataderos, rastros y casas de habitación una vez los anticuerpos vacunales desaparezcán. Obteniendo

como resultado del estudio que de 2 349 muestras se obtuvieron dos animales positivos, a éstos se les realizó una prueba confirmatoria que se basó en realizar nuevamente la prueba con mayor cantidad de muestra para así aumentar la posibilidad de confirmar, los cuales resultaron ser negativos. La razón por la cual pudieron haber salido positivos fueron factores como: contaminación con control positivo a muestras con control negativo, animales recién vacunados que podrían estar circulando el antígeno vacunal. Por lo que se concluyó que la prevalencia estimada de la enfermedad de PPC en el país, es de 0% (Monzón, 2016).

En la investigación titulada “Prevalencia de Peste Porcina Clásica en el Cantón Paute, provincia de Azuay, mediante las pruebas de inmunoensayo enzimático ELISA anticuerpo (Ac) y ELISA antígeno (Ag)”, realizada en el país de Ecuador debido a los brotes de Peste Porcina Clásica en los meses de agosto y setiembre del 2012, siendo necesario determinar la actividad viral post infección y/o post vacunación del virus, para esto se analizaron 151 muestras de suero de la población porcina de traspatio de las parroquias del Cantón Paute, los porcinos se seleccionaron de manera aleatoria. Estas muestras fueron procesadas y analizadas en los laboratorios veterinarios de la agencia ecuatoriana de aseguramiento de la calidad del agro (AGROCALIDAD), mediante las pruebas de ELISA Ac

como prueba filtro y la prueba de ELISA ag de manera confirmatoria, dando como resultados que en 66 del total de porcinos examinados se detectaron anticuerpos contra el virus de la PPC representando el 43.7% de la población de estudio, por lo tanto, el 56.3% conformada por 85 porcinos, no presentaron anticuerpos. Posteriormente se realizó la prueba confirmatoria ELISA Ag a las muestras que fueron positivas dando resultados negativos todas las muestras inicialmente positivas. En donde llegó a la conclusión de que los anticuerpos detectados con la prueba de ELISA ac son resultado de anticuerpos post vacunales (Rocano, 2015).

A nivel nacional se realizó las siguientes investigaciones:

En la investigación titulada “Determinación de la persistencia de los niveles de anticuerpos pasivos contra el virus de la peste porcina clásica en lechones nacidos de marranas con distinto programa de vacunación”, su objetivo fue comparar la persistencia de anticuerpos pasivos en lechones contra el virus de la Peste Porcina Clásica en dos granjas tecnificadas A y B con diferentes programas de vacunación. En la granja A las marranas son vacunadas a los 90 días de gestación y en la granja B las marranas son vacunadas a los 18 a 21 días post parto. En donde se obtuvieron 60 muestras de suero de los lechones por cada granja, las muestras fueron tomadas en la primera, tercera, quinta y séptima semana de edad de los

lechones, así como también de las marranas. Las muestras fueron analizadas utilizando la prueba de ELISA de bloqueo, dando como resultados que en la primera semana de edad todos los lechones presentaron anticuerpos pasivos en ambas granjas, los cuales llegaron a persistir hasta la séptima semana de edad en la mayor parte de los lechones. Determinando además que existe una mayor variabilidad en los niveles de anticuerpos en los lechones de la granja A así también como de las marranas, en comparación con los de la granja B, pero no tuvo significancia estadística (Portilla, 2006).

2.2. BASE TEÓRICA

2.2.1. Historia

Radostis *et al.* (2002), indica que “La Peste Porcina Clásica (PPC) se originó en los Estados Unidos de América, pero en la actualidad su distribución es casi mundial”. Aunque los primeros investigadores americanos creían que la enfermedad era importada de Europa, pero las autoridades europeas aseguraron que la enfermedad se originó en los Estados Unidos de América.

En una presentación, el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), en 1888 sostenía que la enfermedad se presentó por primera vez en el año 1833 en Ohio. Hanson (1957) mencionó que “la primera descripción de la enfermedad de Cólera se presentó en Tennessee, cerca de 1810”. “Esta enfermedad se presentó como una epizootia en 1887,1896,1913 y 1926 provocando brotes significativos en Estados Unidos” (Dunne,1967).

Esta enfermedad ha provocado grandes pérdidas económicas en el sector porcino a nivel mundial desde su aparición en el año 1830 en Estados Unidos, debido a su elevada morbilidad y mortalidad, provocando además un retraso en el desarrollo por las infecciones secundarias que se presentan en los animales que sobreviven a la infección (Morilla, 1997).

La Peste Porcina Clásica presenta un carácter transfronterizo, provocando importantes epizootias en numerosas partes del mundo. Su alto índice de contagio y el peligro de las consecuencias sanitarias que provoca en la sociedad y la economía del país, ubicaron a la PPC en la lista de enfermedades de notificación obligatoria de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, 2019).

2.2.2. Sinonimia

La Peste Porcina Clásica también es conocida como cólera del cerdo, mancha roja y Fiebre Porcina Clásica.

2.2.3. Etiología

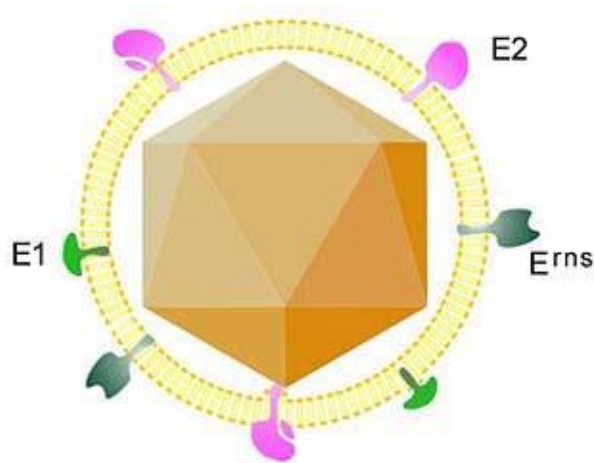
Fauquet *et al.* (2005), describe que “El virus de la Peste Porcina Clásica (VPPC), agente causal de la Peste Porcina Clásica (PPC) es miembro del género Pestivirus, perteneciente a la familia Flaviviridae. Este virus se encuentra relacionado con el virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) y el virus de la Enfermedad de la Frontera (VEF) los cuales afectan a la población bovina y ovina. Van Regenmortel *et al.* (2000) describe que “En la actualidad, el género pestivirus se ha dividido en cuatro especies; la Diarrea Viral Bovina virus-1 (VDVB-1), Diarrea Viral Bovina virus-2 (VDVB-2), virus de la Peste Porcina Clásica (VPPC) y virus de la enfermedad de la frontera (VEF)”.

2.2.4. Morfología

La Peste Porcina Clásica es producida por un virus tipo ARN (ácido ribonucleico). La cápside del virus se encuentra formada por un conjunto de proteínas, presenta una nucleocápside con forma icosaédrica; este virus mide alrededor 40 a 50 nm de diámetro (FAO, 2008). El VPPC se encuentra conformada por una serie de proteínas, destacando principalmente cuatro proteínas estructurales, las cuales son: la proteína C componente de la nucleocápside y tres glicoproteínas, la proteína E1, la proteína E2 y la proteína Erns. También se han descrito que presenta al menos 7 proteínas no estructurales (Moormann *et al.*, 1990).

Figura 1

Esquema resumido del virus causante de la peste porcina clásica con sus proteínas estructurales (Arias, 2006)



2.2.5. Epidemiología

2.2.5.1. Distribución geográfica

La PPC se encuentra en gran parte de Asia, algunas islas del Caribe, países africanos de Madagascar y Mauritius, y en gran parte de América del Sur. Esta enfermedad se ha erradicado en los Estados Unidos, Canadá, Nueva Zelanda, Australia y gran parte de Europa central y occidental y Centroamérica. El VPPC es endémico en el jabalí europeo en partes de

Europa (Spickler, 2015). En nuestro país la PPC presenta un carácter enzootico, presentándose de forma aguda en la zona sierra y selva de nuestro país, y de manera subclínica en la costa (Rivera, 1994).

En el Perú la enfermedad es enzoótica, prevaleciendo la enfermedad aguda en la sierra y selva, y la enfermedad subclínica en la costa (Rivera, 1994).

En el 2005 se presentaron casos de PPC en la ciudad de Arequipa, Puno, Madre de Dios, Lima, Ica y Ucayali (SENASA, 2005).

Figura 2

Estado de países de América dentro del Programa de erradicación de peste porcina clásica de las Américas. (Gabriela et al., 2011)



2.2.5.2. Fuentes de infección

El hospedero natural del virus de la Peste Porcina Clásica es el cerdo doméstico y salvaje (*Sus Scofra*). Existe una estrecha relación con otros pestivirus como la Diarrea Viral Bovina (DVB) lo que complica el diagnóstico de laboratorio debido a la presencia de los falsos positivos. El VPPC no afecta al hombre (AGROCALIDAD, 2014).

2.2.5.3. Métodos de trasmisión

La principal forma de transmisión del virus es por contacto directo de animales sanos a enfermos o animales asintomáticos. La vía aerógena suele ser la principal vía de ingreso del virus al huésped por inhalación, la ingestión de alimento contaminado, a través de la piel por medio de abrasiones o heridas son fuentes importantes de contagio. El virus también puede transmitirse por semen contaminado y por vía transplacentaria. Existe la transmisión mecánica del virus de la PPC por medio de vectores como aves, roedores e insectos, así como también por personal o instrumentos de trabajo contaminados (FAO,2003).

2.2.6. Resistencia

El virus de la Peste Porcina Clásica (PPC) es susceptible al éter y otros solventes de lípidos. En un PH de 5 a 10 no varía, pero se inactiva rápidamente en condiciones de acidez inferior a 3. Castellanos (2011) indica que: “el virus es termoestable y pueden sobrevivir en sangre desfribinada hasta 14 días a 37°C, es sensible a procesos de desecación o de iluminación y putrefacción”. Puede resistir en el ambiente si se encuentra protegido por algún medio proteico como sangre, exudado o heces, y su permanencia en el ambiente se ve afectada por distintos factores como: Temperatura, humedad, presencia de materia orgánica y exposición a diferentes agentes químicos y físicos. El período de supervivencia del virus varía según su ubicación, por ejemplo: en la secreción ocular y descamaciones cutáneas puede estar presente hasta por 15 días; en el pienso, 20 días; en carne refrigerada, 3 meses; en locales deshabitados, hasta 15 días; en purines, 45 días; en las heces, 15 días; en heno contaminado, 7 y 14 días y en agua a 20°C puede estar presente hasta 24 días (AGROCALIDAD, 2010).

2.2.7. Período de incubación

Morilla (2003) describe que:” La etapa de incubación de la PPC varía desde 2 hasta 15 días, dependiendo de la virulencia de la cepa, la vía de inoculación y la dosis. En condiciones de campo, es posible que la enfermedad no sea evidente en una pira, por 2 a 4 semanas, o más”.

2.2.8. Patogenia y cuadro clínico

Radostis et al. (2002) indica que:” La tonsila es el sitio primario de replicación, inicialmente el virus infecta a las células epiteliales de las criptas tonsilares y subsecuentemente se difunde hacia el tejido linforeticular circundante”. Luego el virus pasa al sistema circulatorio provocando una viremia de 12 horas post infección hasta varias semanas después. Para luego diseminarse en diferentes órganos (ganglios linfáticos, bazo, riñón, pulmón, medula ósea) en donde se produce otra replicación viral y se originan las lesiones hemorrágicas características de la enfermedad (SENASA, 2005).

SENASA (2005) indica que: “Las principales vías de eliminación del virus son las secreciones oro nasales y lagrimales, orina, heces, una vez eliminado el virus, el animal puede convertirse en portador”.

Los animales infectados desarrollan una leucopenia y una inmunosupresión, lo cual dificulta el diagnóstico de la enfermedad debido a la presencia de infecciones secundarias (SENASA, 2005).

2.2.8.1. Forma aguda

En la forma aguda de la enfermedad la morbilidad y mortalidad pueden presentarse hasta los 20 días después de la infección. Los porcinos infectados desarrollan una pirexia de hasta 41°C, presentan letargia, anorexia y conjuntivitis, los signos clínicos más característicos de la enfermedad son el enrojecimiento de la piel que evoluciona hasta la cianosis, principalmente de las orejas, el hocico, abdomen y zona medial de las extremidades. En algunas ocasiones pueden presentarse signos clínicos de origen nervioso los cuales se manifiestan en temblores, marchas ondulantes, cojera y caída del tren posterior, problemas de estreñimiento transitorio seguido por diarrea.

Las lesiones que se presentan en la necropsia son de origen hemorrágico, los órganos diana presentan petequias principalmente en el riñón (huevo de pava), vejiga, vesícula biliar, estómago, intestinos, laringe y ganglios linfáticos, las tonsilas pueden presentar zonas con necrosis. El bazo presenta infartos marginales lo cual es indicativo de PPC, los ganglios linfáticos pueden estar agrandados y hemorrágicos, principalmente los gastro hepáticos, mesentéricos y renales. En el intestino delgado y grueso pueden encontrarse congestionados e hiperémicos, con una enteritis catarral y un aumento de las placas de Peyer (SENASA, 2011).

2.2.8.2. Forma sub aguda

Los signos clínicos son similares a la de la forma aguda, pero con un período de duración más prolongada. La mortalidad puede ocurrir a los 20 a 30 días post infección. En la necropsia se observan lesiones similares a la forma aguda, con la diferencia que pueden observarse úlceras en forma de botón a nivel del ciego y en la válvula ileocecal, éstas pueden ser de carácter necrótico con un diámetro de hasta 2 cm (SENASA, 2005).

2.2.8.3. Forma crónica

En esta forma de la enfermedad puede prolongarse por mas de 30 días, con unos signos intermitentes de fiebre, los animales pueden presentar retraso en el crecimiento, decaimiento, apetito variable y conjuntivitis con los párpados adheridos entre sí por secreciones purulentas (parpados engomados). Debido a que esta enfermedad provoca una inmunosupresión del sistema inmunológico son frecuentes las infecciones secundarias bacterianas que complican el cuadro clínico, las cuales pueden ser de origen respiratorio, digestivo y nerviosos. En la necropsia pueden observarse pocas evidencias de las lesiones hemorrágicas, en el intestino se presentan con frecuencia las úlceras botonosas, además pueden observarse signos focales de necrosis con depósitos de fibrina. Es frecuente observar los ganglios linfáticos con una atrofia generalizada (SENASA, 2005).

2.2.8.4. Forma congénita

El virus de la Peste Porcina Clásica puede atravesar la barrera transplacentaria provocando diferentes anomalías fetales según la virulencia de la cepa y el momento en que ocurra la infección, pueden

presentarse abortos, momificaciones, lechones débiles con un temblor congénito, enanismo, escaso crecimiento durante semanas o meses y finalmente muere. Pueden presentarse cerdos clínicamente normales pero con una viremia persistente los cuales no presentan respuesta inmunitaria (Persistentemente Infectado), estos PI son muy importantes reservorios y actúan activamente en la transmisión del virus, facilitando la supervivencia del virus en la piara (FAO, 2003).

Tabla 1

Trastornos esperados según el momento de la infección por PPC en las cerdas gestantes

Signo Clínico Probabilidad de aparición	Momento de la infección Días de gestación		
	30	60	90
Mortalidad embrionaria	Alta	Baja	Nula
Malformaciones congénitas	Alta	Baja	nula
Crías nacidas muertas	Nula	Alta	Alta
Crías virémicas	---	Media	Media
Retraso de crecimiento	---	Media	Media

Fuente: Reconociendo la Peste Porcina Clásica (FAO, 2003).

2.2.9. Diagnóstico

Una medida que puede ser utilizada para diagnosticar la PPC es la ganancia diaria promedio y el consumo de alimento ya que son medidas cuantificables, la temperatura corporal también puede ser útil, ya que la hipertermia se asocia constantemente con el PPC y aparece antes, o simultáneamente con los primeros signos clínicos, en algunas ocasiones pueden presentarse granjas reproductoras con bajo rendimiento, lechones débiles y enfermos.

Un adecuado diagnóstico requiere el uso de pruebas de laboratorio para su confirmación, siendo posible que sea difícil de diferenciar la PPC de otros pestivirus debido a las similitudes que éstos presentan (Spickler, 2015).

2.2.9.1. Diagnóstico diferencial

Existe una gran variedad de síntomas y cambios patológicos provocados por la Peste Porcina Clásica, similares a otras enfermedades que pueden ser provocados por lesiones de carácter hemorrágico, en las cuales tenemos lo siguiente:

Lepoureau & Abreu (2003) describen que: “La Peste Porcina Africana (PPA), tiene una tasa más alta de mortalidad y morbilidad que la Peste Porcina Clásica, en este caso los signos clínicos y las lesiones anatomopatológicas son distinguibles”.

La Erisipela es una enfermedad que afecta a porcinos de todas las edades provocando lesiones cutáneas hemorrágicas, el índice de mortalidad es menor que en la Peste Porcina Clásica y los animales afectados pueden recuperarse con un tratamiento de antibióticos. Las pruebas de laboratorio pueden confirmar el diagnóstico (Figuroa, 1984).

La enfermedad de Aujeszky o Pseudorrabia es una enfermedad que afecta a los porcinos provocando síntomas nerviosos o meningoencefalitis en donde los porcinos pueden aparecer con las extremidades extendidas o rígidas, temblores musculares y dificultad para caminar, pueden presentarse necrosis en hígado y bazo (IICA,2000).

Lepoureau & Abreu (2003) sugieren que: “La salmonelosis cursa con lesiones intestinales similares a las úlceras botonosas de la Peste Porcina Clásica, infiltrado de polimorfo nucleares neutrófilos

rodeando a la lesión y la existencia de focos de necrosis en el hígado”.

Figueroa (1984) indica que: “La Leptospirosis presenta pocos casos agudos y existe antecedentes de signos compatibles con Peste Porcina Clásica. El aislamiento bacteriano y la serología confirma el diagnóstico”.

Pueden presentarse sintomatología similar a la Peste Porcina Clásica en casos de intoxicación por cumarinas o sal, la aplicación de rodenticidas pueden provocar lesiones de carácter hemorrágico (Moenning *et al.*, 1990).

2.2.9.2. Identificación del agente

Para lograr identificar al agente del virus de la Peste Porcina Clásica se utilizan pruebas de laboratorio como la Reacción en Cadena de Polimerasa, así también como el aislamiento viral en cultivo celular; pero son pruebas laboriosas y consumen mucho tiempo y es incompatible con la respuesta rápida requerida para evitar una mayor propagación del virus. La prueba de inmunofluorescencia directa e inmunoperoxidasa son las pruebas de elección para detectar el antígeno viral en secciones de criostato de los órganos afectados, debido a que son rápidas y confiables, pero requieren

técnicos bien capacitados para su ejecución. Los tejidos con mayor probabilidad de contener el virus son las amígdalas, el bazo, los riñones, los ganglios linfáticos ileocecales y los ganglios linfáticos retrofaríngeos (Código Terrestre, 2015).

2.2.9.2.1 Inmunofluorescencia directa (IFD)

La prueba de IFD no es tan sensible como el aislamiento del virus o con la reacción en cadena de polimerasas, un resultado negativo a esta prueba no es suficiente para descartar un caso sospechoso de PPC, debido a que esta prueba hace el uso de anticuerpos policlonales lo que no le permite diferenciar las cepas de PPC con la de otros pestivirus (DVB, VEF), la IFD no logra diferenciar las cepas vacunales o de campo, ya que pueden encontrarse cepas vacunales en los 15 post vacunación. Las tonsilas son el primer sitio de replicación del virus, por lo tanto, es la muestra más adecuada, en casos subagudos y crónicos, el íleon es a menudo el único tejido que puede mostrar fluorescencia (Romero *et al.*, 1998).

2.2.9.2.2. Inmunoperoxidasa directa (IPD)

La FAO (2003) indica que: “Utiliza un panel de anticuerpos monoclonales específicos conjugados con peroxidasa, por lo que ante un diagnóstico

positivo de IFD y la sospecha de la presencia de otro pestivirus debe realizarse el diagnóstico diferencial confirmativo por esta prueba”. El tiempo para la realización de esta prueba es de 6 a 8 horas.

2.2.9.2.3. Reacción en cadenas de polimerasas (PCR)

El RT-PCR es una prueba rápida y sensible para la detección de ácidos nucleicos (ADN, ARN) del agente viral de la PPC, no obstante, debe considerarse la presencia de falsos positivos debido a alguna contaminación en el laboratorio, es necesario confirmar con otras pruebas de laboratorio en caso de un resultado positivo en un brote primario.

Según el Código Terrestre (2015) menciona que “Esta prueba se puede aplicar a muestras de sangre o de suero, así como a órganos sólidos ya sobrenadantes de cultivo celular, y ha sido utilizada con éxito en casos de brotes”. En algunas pruebas de carácter cuantitativo para la determinación del número de moléculas de ARN es necesario llevar a cabo una Reacción de Transcripción reversa (RT) del ARN a ADN antes de que se aplique la prueba de PCR (Aguilera, 2011).

2.2.10. Tratamiento

Ningún tratamiento es eficaz para esta enfermedad.

2.2.11. Prevención

2.2.11.1. Vacunación

Para poder lograr erradicar la enfermedad es necesario aplicar estrictas medidas sanitarias, utilizando programas de vacunación constante en zonas y regiones endémicas a la enfermedad (Camacho, 2005).

SENASA (2005) menciona que “Es muy importante la educación de los productores y toda persona comprometida con el proceso productivo haciéndoles comprender el carácter altamente contagioso y la facilidad con la que se propaga la enfermedad”.

En la actualidad existen diferentes métodos para lograr inmunizar a la población porcina frente el virus de la PPC mediante el uso de diferentes tipos de vacunas, siendo la más utilizada la vacuna a virus vivo modificado (pasajes seriados en conejo) utilizando como virus semilla la “cepa china” (Moennig, 2000).

2.2.11.2. Vacuna con cepa china

Para Terpstra et al (1990) afirma que: “El origen de la cepa china no se conoce exactamente. La mayoría de cepas chinas han sido pasadas cientos de veces en conejos. Las cepas chinas han sido subsecuentemente adaptadas para el crecimiento en cultivos celulares”. Generalmente esta cepa se caracteriza por tener una inserción de 13 uracilos continuos en la región 3 UTR, inexistente en otras cepas de PPC (Moormann *et al.*, 1996).

2.2.12. Monitoreo de ppc (vigilancia activa)

Con el fin de verificar el estado sanitario en las zonas de crianza porcina y las “zonas de control” y lograr determinar las “zonas libres” o donde se encuentre controlada la enfermedad, se realizarán tomas de muestras en centros de beneficio, así como también predios de crianza familiar o traspatio escogidos al azar. La toma de muestras se realiza cada mes, considerando que la fecha de la última vacunación no debe ser menor a treinta y cinco (35) días; el virus vacunal persiste en tejidos hasta por 35 días post vacuna, lo que puede generar resultados inadecuados (SENASA,

2011). En la siguiente tabla se visualiza el número de animales a muestrear por Departamento:

Tabla 2

Animales muestreados por monitoreo

	Departamento	N° de animales muestreados por mes (durante Febrero a Diciembre de 2011) para PPC
1	Amazonas	2
2	Ancash	7
3	Apurímac	6
4	Arequipa	3
5	Ayacucho	6
6	Cajamarca	8
7	Cusco	5
8	Huancavelica	5
9	Huánuco	14
10	Ica	12
11	Junín	5
12	La Libertad	7
13	Lambayeque	3
14	Lima	17
15	Loreto	4
16	Madre de Dios	1
17	Moquegua	1
18	Pasco	5
19	Piura	7
20	Puno	4
21	San Martín	6
22	Tacna	2
23	Tumbes	1
24	Ucayali	3
	Total	134

Fuente: Procedimiento: Control, Prevención Y Erradicación De Peste Porcina Clásica (SENASA,2011).

Mediante el análisis de las muestras remitidas a la unidad del centro diagnóstico de sanidad animal (UCDSA) se buscará detectar el antígeno de la PPC mediante las siguientes pruebas:

- **Inmunofluorescencia Directa (IFD).**- Detecta antígenos de Pestivirus en general.
- **Inmunoperoxidasa Directa (IPD).**- Diferencia los tipos de Pestivirus (las cepas naturales de PPC, las cepas vacunales y los Pestivirus de rumiantes). Sólo se realiza esta prueba a las muestras positivas a IFD.
- **Transcripción Inversa de Cadenas de Polimerasas (RT-PCR).**- confirmación genética (de ARN) del virus de PPC: sólo se realizará esta prueba a:
 - Las muestras positivas a IFD e IPD.
 - En caso de evidencia clínica altamente sospechosa.
 - En caso de zonas donde no se haya reportado la enfermedad.
 - Ocurrencias de enfermedad con nexo epidemiológico a un caso anterior ya confirmado en laboratorio, mediante las pruebas antes señaladas.

- **Secuenciamiento genético.** - Para identificar la procedencia del virus de la PPC. Sólo se realizará esta prueba a las muestras positivas a RT-PCR (SENASA, 2011).

-

2.2.13. Atención de sospecha y ocurrencia de ppc (vigilancia pasiva)

Atención de sospecha de la enfermedad: se procederá de la siguiente manera:

Porcicultores y propietarios de cerdos: Deben estar comprometidos a notificar al SENASA de la localidad, los casos sospechosos de manera inmediata de modo que la contención sea rápida y efectiva, además de permitir las acciones del servicio oficial y seguir las recomendaciones que establecen (SENASA, 2011).

Personal ASP asignado. - Encargado de las tareas asignadas en apoyo a la interdicción, atención del foco y control de la enfermedad. Emite el informe Técnico al RSP (SENASA, 2011).

Personal RSP. - encargado del diseño de la estrategia de atención y sospecha y/o ocurrencia de PPC, del rastreo epidemiológico, asimismo recoge la información indispensable para determinar el impacto y las zonas

de influencia de la enfermedad para lograr delimitar las zonas de trabajo de medidas sanitarias, la recuperación de la condición anterior a la ocurrencia de la enfermedad y plantea la estrategia de control de la enfermedad al JASA.

JASA. - Es el responsable en su jurisdicción del seguimiento de las actividades de campo en la zona afectada. Supervisa la ejecución de actividades de campo desde la identificación del brote de enfermedad hasta el levantamiento de la cuarentena (SENASA, 2011).

2.2.13.1. Definición de sospecha

Teniendo en cuenta que el período de incubación de la PC es de 2- 15 días y que los signos clínicos que se presentan son de forma variable e inespecíficos, la decisión de considerar sospechoso a un animal dentro de una explotación o crianza se basará en la observación clínica de los cerdos (SENASA, 2011).

2.2.14. Acciones ante una sospecha de ppc (vigilancia pasiva).

Ante cualquier indicio, reporte o una inspección de rutina se sospecha de la ocurrencia de PPC, el RSP o quien designe el JASA se encarga de la ejecución del Rastreo Epidemiológico. Para tal efecto el RSP evalúa la calidad de la información, en caso este sea por vía telefónica u otro medio no personal e indaga para obtener información relevante que permita confirmar la sospecha de PPC. Reporta la situación al JASA o quien esté encargado del área y se apersona a la explotación porcina, plaza pecuaria, camal u otro de la forma más rápida posible, llevando consigo un Equipo Personal de bioseguridad y toma de muestras. El especialista debe adoptar y asumir las medidas de bioseguridad que el establecimiento disponga, en caso el establecimiento o crianza no las tenga implementada, el especialista debe tomar las medidas alternas para evitar el riesgo de difusión de la posible enfermedad (SENASA, 2011).

2.2.15. Resultado de laboratorio positivo a la enfermedad de PPC y establecimiento de cuarentena.

Confirmada la ocurrencia de PPC mediante análisis de laboratorio y en base al informe que emita el RSP encargado de la evaluación epidemiológica, con opinión del JASA y del Director Ejecutivo del SENASA de la jurisdicción, se declara cuarentena en área focal y las medidas que conllevan esta acción en las zonas delimitadas alrededor de esta (SENASA, 2011).

2.2.16. Procedimiento para el control de la enfermedad.

El médico veterinario del SENASA o de la práctica privada autorizado por convenio informa al JASA de la ocurrencia de PPC, con este informe el Director Ejecutivo solicita el apoyo de las Fuerzas Policiales si el caso así lo requiere y se ejecutan las siguientes medidas:

Acciones en el foco:

- Una vez establecida la cuarentena se procede al sacrificio de animales positivos a PPC, clínicamente enfermos, febriles,

desmedrados y otros en contacto directo con el (los) caso(s) positivo (s) a PPC; asimismo se orienta el sacrificio de marranas con crías involucradas en el proceso epizootico o con indicadores productivos y reproductivos negativos.

- No vacunar en predios expuestos, inmediatamente después del brote, ya que esta acción podría originar portadores asintomáticos.
- La manera de eliminación de los animales debe formularse de acuerdo con el número de animales, la velocidad de la técnica, para prevenir la propagación de la enfermedad, reforzando la seguridad ambiental y el bienestar de los animales, así como también la de los operarios.
- Eliminación de desechos: Una vez concluido el sacrificio de los cerdos se procederá a retirar todo el estiércol o porquinaza de los corrales afectados y enterrarlos junto con los cerdos sacrificados.
- Para la desinfección, limpieza y eliminación de los roedores, es necesario realizar la desinfección y limpieza rigurosa de todos los materiales y equipos que se encuentren en la granja afectada, supervisada por algún responsable del grupo de trabajo (SENASA, 2011).

2.2.17. Determinación del estatus de país, zona o compartimiento libre de ppc.

Las consideraciones descritas en este procedimiento son concordantes con los lineamientos establecidos en el código Sanitario para Animales terrestres vigente, de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) en relación a vigilancia epidemiológica específica para demostrar la ausencia de la infección, movilización interna y externa de especies susceptibles, atención de casos de enfermedad, acciones de cuarentena, inmunización de animales susceptibles, entre otros de importancia sanitaria, a fin de demostrar la ausencia de la infección en las poblaciones de cerdos susceptibles a la PPC (SENASA, 2011).

El objetivo es adquirir y mantener el estatus de país libre de PPC, asimismo es posible mantener una o más sub poblaciones de animales con un estatus sanitario distinto al resto del país. Las sub poblaciones pueden estar separadas del resto de la población de animales por barreras naturales o artificiales y en determinadas situaciones, por el empleo de métodos de gestión adecuados (SENASA, 2011).

Para demostrar la ausencia de la actividad viral y declarar zona o compartimiento libre de enfermedad se realizará las acciones siguientes:

- Suspensión de la vacunación contra PPC por más 12 meses.
- Ausencia de reportes positivos a PPC.
- Monitoreo serológico y de tejidos (tonsilas) con el propósito de detectar la presencia del virus en el hato o rebaño, mediante las pruebas de ELISA. IFD y RT-PCR.
- Restricción de la producción y comercialización de vacunas contra PPC.
- Mantenimiento de un banco central de vacunas de emergencia.

2.2.18. Centinelización

Es un proceso utilizado para descartar la circulación viral posterior a un brote de Peste Porcina Clásica, mediante la introducción de animales susceptibles a la enfermedad, sanos y sin presencia de anticuerpos a lugares o zonas donde se haya ejecutado el proceso de control de la enfermedad (Sacrificio sanitario, desinfección, vacío sanitario, cuarentena), con el fin de determinar la ausencia de la circulación viral, mediante el monitoreo permanente de los animales centinelas (FAO, 2013).

Las especies utilizadas en el proceso son porcinos aparentemente sanos con un peso de 15 a 45 kg de peso vivo, provenientes de una zona libre de enfermedades y que no hayan sido vacunados. Es recomendable utilizar animales de la misma especie implicada en el brote.

Antes del ingreso a los predios afectados los animales centinelas deben ser identificados individualmente y tienen que ser sometidos a exámenes clínicos y de laboratorio para descartar la presencia de anticuerpos contra la enfermedad. Es recomendado desparasitar a los animales centinelas con productos que no estimulen el sistema inmunológico (FAO, 2013).

Para la realización del proceso de centinelización se debe considerar un 5% de la población total del predio afectado previo al brote, o también se puede considerar 5 animales centinelas como referencia.

La duración del proceso de centinelización está comprendida por dos períodos de incubación del virus como mínimo, con resultados negativos a serología (FAO, 2013).

Se debe realizar una rotación de los animales centinelas en el predio afectado principalmente en la zona donde se encuentra la fosa sanitaria, también pueden permanecer libres dentro del predio.

Se debe inspeccionar a los animales centinelas de manera diaria durante todo el proceso de centinelización, la inspección se realiza dos veces al día (mañana y tarde), se debe registrar las observaciones en un registro diario para este fin (FAO, 2013).

Si se presenta un caso positivo durante el proceso de centinelización, se sacrificarán los animales centinelas y se repetirá el proceso desde el “procedimiento para el control de la enfermedad”. Posteriormente se realizará nuevamente el proceso de centinelización.

Una vez concluido el proceso de centinelización con resultados negativos a la enfermedad, los animales centinelas pueden quedarse formando parte de la población del predio, o pueden ser enviados a centros de faenamiento oficiales para consumo interno (FAO, 2013).

2.3. BASE CONCEPTUAL

- **ASP:** Asistente en Sanidad Porcina (SENASA, 2011).
- **Animal centinela:** Especies muy susceptibles, sin infección ni anticuerpos, que localizados en un área determinada podría contraer la enfermedad en caso de que el agente infeccioso esté presente (FAO, 2013).
- **Anticuerpos:** Proteína inmunológica que producen los linfocitos en respuesta al contacto con un antígeno (FAO, 2013).
- **Cuarentena:** Acción legal, que impone restricciones en el movimiento interno de entrada o salida de un predio definido o de un área, con el propósito de evitar la difusión directa de la enfermedad (FAO, 2013).
- **Centinelización:** Procedimiento de vigilancia epidemiológica en el que se utilizan animales de especies susceptibles, no vacunados, libres de anticuerpos contra el virus de Peste Porcina Clásica (testigos), en la etapa previa al repoblamiento de un área que fue afectada por la enfermedad (SENASA, 2005).
- **Endémico:** Enfermedad que reina habitualmente, o en épocas fijas, en un país o comarca (FAO, 2013).

- **Enzootia:** Enfermedad que afecta a una o más especies animales en un determinado territorio, por causa o influencia local (RAE, 2019).
- **JASA:** Jefe del Área de Sanidad Animal (SENASA, 2011).
- **RSP:** Responsable de Sanidad Porcina (SENASA, 2011).
- **Piara:** Designa varios animales de la misma especie (Porcinos) que se crían juntos bajo control humano o un grupo de animales silvestres de instinto gregario (OIE, 2019).
- **Predio:** Finca, tierra o posesión inmueble (RAE, 2019).
- **Purines:** Los purines son cualquiera de los residuos de origen orgánico, como aguas residuales y restos de vegetales, cosechas, semillas, concentraciones de animales muertos, pesca, comida, excrementos sólidos o líquidos, o mezcla de ellos, con capacidad de fermentar o fermentados que tienen impacto medioambiental (RAE, 2019).
- **PPC:** Peste Porcina Clásica (SENASA, 2011).

CAPÍTULO III

MATERIAL Y MÉTODO

3.1. MATERIAL

3.1.1. Ubicación geográfica y temporal

El presente estudio se realizó en predios pertenecientes al distrito de Calana, en la localidad de Cerro Blanco; el primer predio (predio A) se encuentra ubicado con las coordenadas UTM de 19S 373769 8010635; el segundo predio (Predio B) se encuentra ubicado con las coordenadas UTM de 19S 373844 1989368; Ambos pertenecientes a la ciudad de Tacna. La ciudad de Tacna está ubicada en la región sur del país en las coordenadas UTM 19S 367290 8007744; su clima es seco con variaciones de temperaturas de 12°C a 30°C. En el verano el clima es templado (20°C a 29°C) y en el invierno es húmedo y frío a (8°C a 20°C). La temperatura media anual es de 17°C. La precipitación anual es menor a 10mm, con una humedad relativa de 80% (SENHAMI, 2011).

Limita por el Norte con el departamento de Moquegua y Puno, por el Este con la Republica de Bolivia, por el Sur con la Republica de Chile y por el Oeste con el Océano Pacífico.

3.1.2. Unidad de estudio

La unidad de estudio es el porcino centinela sin presencia de anticuerpos contra PPC, los cuales fueron introducidos a dos predios posterior a un brote de PPC sometidos a un plan de control y erradicación oficial.

3.1.3. Población y muestra

3.1.3.1. Población: La población estuvo conformada por 10 porcinos centinelas (5 animales por predio) criollos, de una explotación extensiva convencional, cuyos criterios de selección fueron: 50 días de edad en promedio, peso aproximado de 15 a 20 kilos, con una distribución homogénea de sexos, los cuales estaban en buenas condiciones de salud al momento de la selección y sin presentación de historial de vacunación

para PPC; provenientes de madres no inmunizadas con un período mínimo de 6 meses.

3.1.3.2. Muestra: La muestra estuvo conformada por el 100 % de la población centinela, de las cuales se tomaron 40 sueros sanguíneos y 30 muestras biológicas (10 tonsilas, 10 ganglios linfáticos, 10 muestras de bazo), de porcinos centinelas de ambos predios. Se rotuló cada muestra con la edad del animal, identificación del predio y fecha de extracción.

Las muestras serológicas se obtuvieron de la vena cava anterior y la vena yugular en tubos vacutainer que fueron etiquetadas y almacenadas inmediatamente en termos refrigerantes, para su transporte. Estas muestras fueron centrifugadas en la oficina del Servicio Nacional de Sanidad Agraria Tacna, y así se obtuvieron de 1cc a 2cc de suero sanguíneo para ser enviado a los laboratorios de SENASA en la Ciudad de Lima donde fueron procesadas.

3.1.4. CRITERIO DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

El tipo de estudio es longitudinal, los animales fueron seleccionados bajo ciertas características para ser incluidos en el estudio; entre ellos se consideraron los siguientes criterios:

Criterio de inclusión: Animales aparentemente normales sin anticuerpos contra PPC mediante la prueba de ELISA.

Criterio de exclusión: Animales con anticuerpos maternos, animales vacunados, animales enfermos, animales febriles, animales con bajos niveles de parámetros productivos.

3.2. MÉTODO

3.2.1. Tipo y diseño de la investigación.

El tipo de investigación que se utilizó en el trabajo de investigación corresponde al descriptivo longitudinal, es descriptivo debido a que consiste en describir fenómenos, situaciones, contextos y eventos; esto es, detallar cómo son y se manifiestan. Y es longitudinal debido a que se recolectan datos a través del tiempo en puntos o períodos diferentes, para hacer inferencias respecto al cambio, sus determinantes y consecuencias (Hernández et al, 2005).

3.2.2. Método de la investigación.

Identificación de los animales:

Al ser un muestreo longitudinal, los animales fueron identificados de manera individual, para ello se utilizaron aretes como medio de identificación a los animales, con la finalidad de dar el seguimiento adecuado hasta el final del estudio.

Evaluación clínica

La evaluación clínica se realizó de forma grupal durante las mañanas en todo el período del estudio. La frecuencia de observación de los porcinos centinelas fue diaria, la evaluación consistió en la detección visual de algún signo clínico de tipo respiratorio, digestivo, dérmico o nervioso característico de la enfermedad, así como la evaluación del estado general de los porcinos centinelas de manera visual (no se manipularon a los porcinos centinelas para este fin, debido al estrés que les produce dicha actividad).

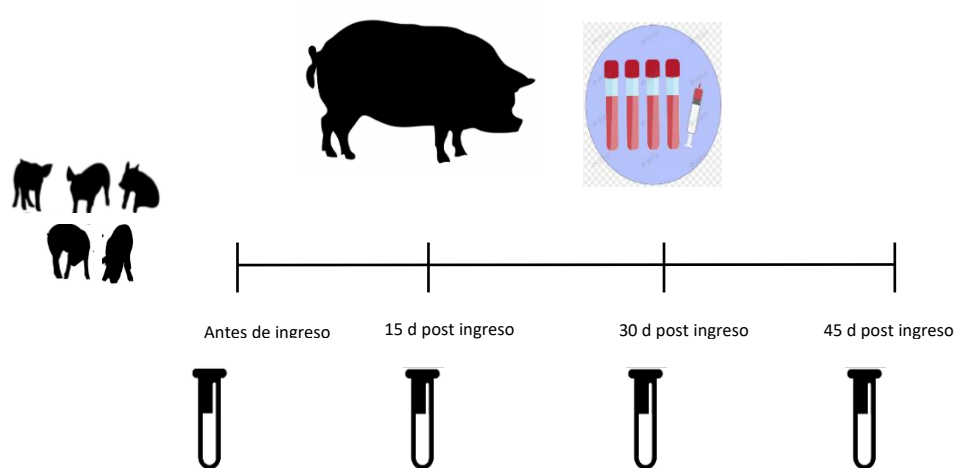
Esquema de muestreo:

La toma de muestra se realizó de la siguiente manera:

- Muestras de suero:
 - 1ra: antes del ingreso al predio positivo a PPC culminado el período de cuarentena.
 - 2da: A los 15 días post ingreso
 - 3ra: A los 30 días post ingreso
 - 4ta: A los 45 días post ingreso

Figura 3

Esquema de muestreo serológico



- Muestras de tonsilas u órganos:
 - 45 días post ingreso los animales fueron llevados al matadero para beneficio.

- Se realizó la inspección post mortem de los órganos.
- Se tomaron muestras de tonsilas, ganglios (hepatogástrico) y bazo.

Toma y mantenimiento de las muestras de sangre

Las muestras de sangre fueron tomadas de los animales en un volumen de 3 a 7cc (equipo vacutainer), las cuales fueron obtenidas por punción de la vena cava y/o vena yugular dependiendo del tamaño del animal a los 0, 15, 30 y 45 días post introducción de los animales a los predios.

Las muestras de órganos fueron extraídas en el matadero, colocadas en bolsas ziploc e identificadas adecuadamente, a los 45 días post introducción de los animales a los predios.

Se rotularon las muestras con la identificación del animal y la fecha, se dejó coagular en una posición de 45°, una vez formados los coágulos, se colocaron los tubos en la gradilla en posición vertical, se dejaron a temperatura ambiente hasta que exuden el suero. Luego se realizó el desuerado, mediante centrifugación de 15 a 20 minutos a 1500 rpm , luego se trasvasó el suero a un vial, utilizando las pipetas de transferencia

descartable. Se rotularon las muestras de suero utilizando etiquetas generadas por el SIGSA.

Envío de la muestra:

Antes del envío de muestras estas fueron adecuadamente identificadas con el código que se indica en el sistema (SIGSA). Asimismo, se contó con la cantidad suficiente de geles refrigerantes; las muestras biológicas (tonsilas) fueron enviadas en paquetes de buena calidad, resistente a golpes o accidentes que pueden presentarse durante su transporte. Los documentos que contienen la información de las muestras fueron enviadas de manera conjunta con la muestra en un sobre debidamente protegido.

3.2.3. Recolección de datos

Para recolectar los datos del objetivo específico 1, se utilizó los sueros de las muestras tomadas mediante la prueba de ELISA de bloqueo, cuyo procedimiento es el siguiente:

Elisa de bloqueo (ADEXX CSFV ab)

Para la realización del examen de Elisa se utilizó el “kit para la detección de Anticuerpos frente al virus de la Peste Porcina Clásica (CSFV)”; El IDEXX CSFV Ab; fue diseñado para detectar en suero o plasma anticuerpos específicos frente a CSFV, el ensayo es un ELISA de bloqueo que utiliza placas de microtitulación tapizadas con antígeno CSFV. Los anticuerpos presentes en la muestra bloquean la unión de la peroxidasa conjugada a los anticuerpos monoclonales específicos de CSFV. El resultado se indica por el desarrollo del color. La densidad óptica se midió con un lector de microplacas a una longitud de onda dual de 450 nm y 650 nm. El desarrollo de color es débil (resultado positivo) cuando hay presencia de anticuerpos específicos CSFV en la muestra. El desarrollo de color es máximo (resultado negativo) cuando hay ausencia de anticuerpos específicos. El porcentaje de bloqueo de la muestra se calcula a partir de la densidad óptica (OD450) obtenida con la muestra y la OD450 del control negativo.

1. Preparación de los reactivos: Las microplacas tapizadas, el diluyente de la muestra, el control positivo, el control negativo, el conjugado, la solución de substrato y la solución de frenado se suministraron listas para su uso.

2. Solución de lavado: La solución de lavado concentrada (10X) adquirió una Temperatura de 18 a 26°C y se agitó para asegurar la disolución de posibles sales precipitadas. El concentrado (10X) fue diluido al 1:10 en agua ultrapura (bidestilada). Preparándose en condiciones estériles, la solución de Lavado puede almacenarse durante una semana entre 2 a 8 °C. Ejemplo: para 300 ml de Solución de Lavado, diluir 30 ml de Solución de Lavado Concentrada (10X) con 270 ml de agua ultrapura (bidestilada) y mezclar bien.
3. Preparación de las muestras: Se utilizó con esta prueba suero sanguíneo congelado y refrigerado.
4. Protocolo de ensayo: Todos los reactivos alcanzaron una T° de 18-26°C antes de su uso. Los reactivos se mezclaron invirtiéndolos o agitándolos en un vortex suavemente.
 - Se añadió 50 ul de Diluyente de la Muestra a todos los pocillos que se utilizaron en la prueba y a los pocillos de control.
 - Se añadió 50 ul de Control Positivo y Negativo a los pocillos apropiados.
 - Se añadió 50 ul de la muestra de suero en el resto de la placa. No se empleó las mismas puntas de pipetas para muestras diferentes.

- Se mezcló los contenidos de los micropocillos moviendo suavemente la placa y/o mediante el empleo de un agitador de placas de microtitulación.
- Se incubó las placas durante 2 horas (+5 min). Las placas fueron selladas firmemente para evitar evaporaciones, y se incubó con cubiertas en una cámara húmeda.
- Se lavó cada pocillo con aproximadamente 300 ul de solución de Lavado tres veces. Se aspiró los contenidos líquidos de todos los pocillos después de cada lavado. Después de la aspiración final, se eliminó el fluido de lavado residual de cada placa golpeándola sobre material absorbente. Se evitó que las placas se sequen entre lavados y antes de añadir el reactivo siguiente.
- Se añadió 100 ul de Conjugado a cada pocillo. Inmediatamente después se Incubó las placas selladas con una hoja de plástico o en una cámara húmeda tapada con cubiertas para placas, durante 30 minutos de 18 a 26 °C.
- Se lavaron los pocillos (ver paso anterior)
- Se añadió 100 ul de Substrato TMB n°.12 a cada pocillo y se incubaron 10 minutos (+- 1 min) a 18 a 26 °C lejos de la luz

directa. Comenzando a cronometrar una vez llenado el primer pocillo.

- Para la reacción al cabo de 10 minutos, se va añadiendo 100 ul de Solución de Frenado n° 3 a cada pocillo. Se añadió la Solución de Frenado n°3 en el mismo orden que se añadió el Substrato TMB n° 12 en el paso anterior.
- Se midió la absorbancia de las muestras y controles empleando una longitud de onda dual de 450 nm y 650 nm en un lector de microplacas (empleando aire como blanco).
- Se calculó la media de los valores de absorbancia para cada muestra desconocida analizada a la prueba y para los controles.

5. Resultados: La media del valor OD450 del Control Negativo debe tener una densidad óptica superior a 0,500. El Control Positivo debe presentar un porcentaje de bloqueo mayor al 50%.

6. Interpretación de los resultados:

- La muestra es POSITIVA (contiene anticuerpos) si el porcentaje es bloqueo mayor o igual al 40%.
- La muestra es NEGATIVA (no contiene anticuerpos) si el porcentaje de bloqueo es menor o igual al 30%.

- Si el porcentaje de bloqueo de la muestra está entre el 30% y el 40%, se considera como DUDOSO en este caso se recomienda volver a tomar la muestra de sangre en dos semanas posteriores.

Para determinar el segundo objetivo específico el plan de control y erradicación utilizado en los predios afectados fue el siguiente:

Figura 4

Esquema de las medidas tomadas en el control y erradicación del brote de PPC



La evaluación del mismo se realizó en base a la detección del agente viral (VPPC) mediante las pruebas de inmunofluorescencia e inmunoperoxidasa cuyo procedimiento fue el siguiente:

Inmunofluorescencia

La prueba de IFD detecta antígenos virales. La prueba se realiza en secciones de tejido de criostato de la amígdala, el bazo, el riñón y la parte distal del íleon. Las secciones de tejido se incuban con una globulina anti pestivirus marcada con fluoresceína (conjugada). Las secciones se examinan en busca de células fluorescentes con un microscopio de luz ultravioleta. Dado que la prueba de IFD emplea un conjugado preparado a partir de una globulina policlonal anti-PPC, no puede diferenciar entre antígenos de varios pestivirus. Por lo tanto, un resultado positivo con la IFD debe ir seguido de una de Inmunoperoxidasa (IPD) utilizando anticuerpos monoclonales (MAb) que pueden diferenciar el VPPC de otros pestivirus.

Descripción del procedimiento realizado:

- Se cortó secciones de 4 μm de las muestras de órganos con un microtomo de criostato. Luego las muestras se fijaron en un cubreobjetos.
- Se incluyó en el procedimiento una sección positiva y negativa del VPPC en la prueba para verificar la actividad del conjugado y la tinción de fondo.
- Se dejaron secar las secciones 15 minutos a 37°C (en algunas ocasiones se fijaron las secciones 10 minutos en acetona).
- Se enjuagó las secciones una vez en una solución tamponada de fosfato salino (PBS).
- Se preparó la dilución de trabajo del conjugado en PBS, luego se colocaron los cubreobjetos en una cámara húmeda y se aplicó la dilución de trabajo PrioCON FITC Pan-pesti en PBS en las secciones.
- Se incubaron 30 minutos a 37°C en la cámara húmeda.
- Se lavaron las secciones 5 veces por 2 minutos en PBS y Tween 80 al 0,05% a temperatura ambiente (20 – 25°C).

- Se drenó los cubreobjetos y se montó en un portaobjetos con tampón de montaje (de Prionics Lelystad B.V.)(tampón de carbonato 0,5 M (pH 9,5) diluido 1:10 en glicerol al 100%).
- Se examinaron las secciones en busca de células fluorescentes (citoplasma) con un microscopio de luz ultravioleta.
- Se interpretó la prueba.

Inmunoperoxidasa

Para detectar si el resultado positivo con el IFD es causado por el virus de campo de la PPC, el virus de la vacuna contra PPC, el virus de la diarrea viral bovina (VDVB) o el virus de la enfermedad de la frontera (VEF), diferenciación con anticuerpos monoclonales (MAbs) específicos para la PPC y la cepa vacunal china de PPC.

Las secciones de criostato de la amígdala se incuban por separado con 3 MAb marcados con peroxidasas diferentes codificados como PrioCON HRPO 21.2, PrioCON HRPO 44.3, PrioCON HRPO 63.19 y un anticuerpo policlonal marcado con peroxidasa PrioCON HRPO Pan-Pestivirus. Se recomienda incubar todos los conjugados en secciones de referencia

positivas. Posteriormente todos los cortes se tiñen con el cromógeno/sustrato.

PrioCON HRPO 21.2 reconoce todas las cepas del VPPC. PrioCON HRPO 44.3 no reconoce el virus de la vacuna contra Peste Porcina Clásica. Ambos conjugados no reconocen VDVB y VEF. Si la reacción con PrioCON HRPO 21.2, y PrioCON HRPO 44.3 es negativo y las secciones incubadas con PrioCON HRPO Pan-pestivirus son positivas, el diagnóstico es VDVB o VEF. PrioCON HRPO 63.19 detecta sólo la cepa china de VPPC y se agrega a la prueba cuando se sospecha del virus de la vacuna de VPPC.

El procedimiento realizado fue el siguiente:

- Se cortó ocho secciones de 4µm de las muestras de órganos (Amígdalas, Bazo y Ganglios Linfáticos). Las secciones quedaron fijadas en un portaobjetos.
- Se dejaron secar las secciones cortadas durante 15 minutos a 37°C (en algunas secciones se fijaron en acetona durante 10 minutos).
- Se enjuagaron las secciones una vez en PBS/0,05% de Tween80.
- Luego se preparó la dilución de trabajo del conjugado en PBS (pH 7,6) + Tween80 al 0,05% + suero de caballo al 4%. Se

incubaron las secciones (incluidas las secciones de referencia positivas y negativas de VPPC) con una dilución de trabajo de conjugados de PrioCON:

- 2 secciones con PrioCON HRPO 21.2
 - 2 secciones con PrioCON HRPO 44.3
 - 2 secciones con PrioCON HRPO 63.19
 - 2 secciones con PrioCON HRPO Pan-pestivirus.
- Se incubó las secciones durante 1 hora a 37°C en la cámara húmeda.
 - Se lavaron las secciones 6 veces por 10 segundos en PBS / Tween 80 al 0,05%.
 - Se enjuagaron las secciones una vez en acetato de sodio 0,05 M (pH 5,0).
 - Se tiñeron los cortes con una solución cromógeno/sustrato recién preparada (3-amino-9-etil-carabazol (AEC)) durante 5 a 15 minutos a temperatura ambiente.
 - Se enjuagaron las secciones una vez en acetato de sodio 0,05 M (pH 5,0) y se montaron en un portaobjetos.
 - Se examinaron las secciones con un microscopio óptico.
 - Se interpretó la prueba realizada.

- Un citoplasma teñido de rojo oscuro de las células epiteliales que delimitan las criptas amigdalares principalmente, indica el reconocimiento del virus por los respectivos conjugados y se considera un resultado positivo de la prueba.

3.2.4. Análisis de los datos

Para ambos objetivos se utilizó estadística descriptiva en base a porcentajes. Los datos obtenidos en la recolección de datos se analizaron de la siguiente manera:

Para el objetivo específico 1, se obtuvo los porcentajes en los días 0, 15,30,45.

Porcentaje total de animales enfermos de Peste Porcina Clásica (PPC)

$$\% \text{ total de animales enfermos} = \frac{\text{N}^\circ \text{ De casos positivos a ELISA}}{\text{Población total del estudio}} \times 100$$

Para el objetivo 2 se obtuvo el porcentaje de animales positivos al examen de Inmunofluorescencia e Inmunoperoxidasa.

Inmunofluorescencia:

$$\% \text{ total de animales enfermos} = \frac{\text{N}^\circ \text{ De casos positivos a Inmunofluorescencia}}{\text{Población total del estudio}} \times 100$$

Inmunoperoxidasa:

$$\% \text{ total de animales enfermos} = \frac{\text{N}^\circ \text{ De casos positivos a Inmunoperoxidasa}}{\text{Población total del estudio}} \times 100$$

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. MUESTRAS DE SUERO

4.1.1. Detección de anticuerpos contra Peste Porcina Clásica, en la introducción de los porcinos centinelas a los predios de estudio (Día 0).

Tabla 3

Niveles de anticuerpos contra el virus de la Peste Porcina Clásica en el día 0

ELISA PARA DESCARTE DE PESTE PORCINA CLÁSICA			
PREDIO	N°	IDENTIFICACIÓN DE ANIMAL	RESULTADO
A	1	6 601	Negativo
	2	6 603	Negativo
	3	6 604	Negativo
	4	6 607	Negativo
	5	6 608	Negativo
B	6	6 610	Negativo
	7	6 611	Negativo
	8	6 612	Negativo
	9	6 613	Negativo
	10	6 617	Negativo

En la tabla 3 se observa que el 100% de los animales obtuvieron un resultado negativo, determinándose así la ausencia de anticuerpos para Peste Porcina Clásica, en el primer muestreo del día.

4.1.2. Detección de anticuerpos contra Peste Porcina Clásica, considerado como el primer período máximo de incubación del virus (Día 15).

Tabla 4

Niveles de anticuerpos contra el virus de la Peste Porcina Clásica en el día 15

ELISA PARA DESCARTE DE PESTE PORCINA CLÁSICA			
PREDIO	N°	IDENTIFICACIÓN DE ANIMAL	RESULTADO
A	1	6 601	Negativo
	2	6 603	Negativo
	3	6 604	Negativo
	4	6 607	Negativo
	5	6 608	Negativo
B	6	6 610	Negativo
	7	6 611	Negativo
	8	6 612	Negativo
	9	6 613	Negativo
	10	6 617	Negativo

En la tabla 4 se observa que el 100% de animales obtuvieron un resultado negativo, determinándose así la ausencia de anticuerpos contra Peste Porcina Clásica, en el segundo muestreo del día 15.

4.1.3. Detección de anticuerpos contra Peste Porcina Clásica, considerado como el segundo período máximo de incubación del virus (Día 30).

Tabla 5

Niveles de anticuerpos contra el virus de la Peste Porcina Clásica en el día 30. la prueba de ELISA de bloqueo

ELISA PARA DESCARTE DE PESTE PORCINA CLÁSICA			
PREDIO	N°	IDENTIFICACIÓN DE ANIMAL	RESULTADO
A	1	6 601	Negativo
	2	6 603	Negativo
	3	6 604	Negativo
	4	6 607	Negativo
	5	6 608	Negativo
B	6	6 610	Negativo
	7	6 611	Negativo
	8	6 612	Negativo
	9	6 613	Negativo
	10	6 617	Negativo

En la tabla 5 se observa que el 100% de animales obtuvieron un resultado negativo, determinándose así la ausencia de anticuerpos contra Peste Porcina Clásica, en el tercer muestreo del día 30.

4.1.4. Detección de anticuerpos contra Peste Porcina Clásica, considerado como el tercer período máximo de incubación del virus (Día 45).

Tabla 6

Niveles de anticuerpos contra el virus de la Peste Porcina Clásica en el día 45

ELISA PARA DESCARTE DE PESTE PORCINA CLÁSICA			
PREDIO	N°	IDENTIFICACIÓN DE ANIMAL	RESULTADO
A	1	6 601	Negativo
	2	6 603	Negativo
	3	6 604	Negativo
	4	6 607	Negativo
	5	6 608	Negativo
B	6	6 610	Negativo
	7	6 611	Negativo
	8	6 612	Negativo
	9	6 613	Negativo
	10	6 617	Negativo

En la tabla 6 se observa que el 100% de animales obtuvieron un resultado negativo, determinándose así la ausencia de anticuerpos contra Peste Porcina Clásica, en el cuarto y último muestreo del día 45.

4.2. MUESTRAS BIOLÓGICAS

4.2.1. Inmunofluorescencia

Una vez culminado el muestreo serológico se procedió a realizar el examen a las tonsilas.

Tabla 7

Detección de Antígeno para Pestivirus mediante la prueba de Inmunofluorescencia directa, a los 45 días post ingreso

INMUNOFLUORESCENCIA DIRECTA PARA PESTIVIRUS				
PREDIO	N°	IDENTIFICACIÓN DE ANIMAL	MUESTRA	RESULTADO
A	1	6 601	Amígdala	Negativo
	2	6 603	Amígdala	Negativo
	3	6 604	Amígdala	Negativo
	4	6 607	Amígdala	Negativo
	5	6 608	Amígdala	Negativo
B	6	6 610	Amígdala	Negativo
	7	6 611	Amígdala	Negativo
	8	6 612	Amígdala	Negativo
	9	6 613	Amígdala	Negativo
	10	6 617	Amígdala	Negativo

En la tabla 7 se confirma la ausencia del antígeno de Peste Porcina Clásica y otros pestivirus a los 45 días post introducción de los porcinos centinelas a los predios, mediante el examen de inmunofluorescencia directa.

4.2.2. Inmunoperoxidasa

Detección de Antígeno de Peste Porcina Clásica mediante la prueba de Inmunoperoxidasa, a los 45 días post ingreso de los animales a los predios afectados.

Tabla 8

Detección de Antígeno de Peste Porcina Clásica mediante la prueba de Inmunoperoxidasa, a los 45 días post ingreso

PRUEBA DE INMUNOPEROXIDASA PARA PESTE PORCINA CLÁSICA				
PREDIO	N°	IDENTIFICACIÓN DE ANIMAL	MUESTRA	RESULTADO
			Amígdala, Bazo, Ganglios Linfáticos	
A	1	6 601	A, B, GL	Negativo
	2	6 603	A, B, GL	Negativo
	3	6 604	A, B, GL	Negativo
	4	6 607	A, B, GL	Negativo
	5	6 608	A, B, GL	Negativo
B	6	6 610	A, B, GL	Negativo
	7	6 611	A, B, GL	Negativo
	8	6 612	A, B, GL	Negativo
	9	6 613	A, B, GL	Negativo
	10	6 617	A, B, GL	Negativo

En la tabla 8 se observa la ausencia total del vPPC en los predios afectados, en donde se determina la ausencia de circulación viral de la PPC, así también como la de otros pestivirus y/o cepas vacunales.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos, de un total de 10 porcinos centinelas, 5 en cada predio, examinados en tres períodos de incubación máxima del virus (15 días x 3 repeticiones) mediante las pruebas de ELISA AC, para verificar la presencia de anticuerpos contra Peste Porcina Clásica, No se observó la presencia de éstos en los porcinos centinelas del presente estudio, dando un porcentaje de 0% a la presencia de anticuerpos contra PPC, utilizando las pruebas de Inmunofluorescencia Directa e Inmunoperoxidasa de manera confirmatoria a la presencia de Antígenos en el día 45, determinándose así que no existe circulación viral en los predios en donde se desarrolló el presente trabajo de investigación.

El presente estudio comparado con el trabajo de investigación realizado por Bañales (1996), denominado “evaluación del programa de centinelización de la fiebre porcina clásica en 83 granjas del estado de Jalisco de mayo de 1995 a febrero de 1996”, donde se analizaron 2 377 muestras serológicas en los cuales 2 355 resultaron negativos, 11 sospechosos y 11 positivos;

en donde el caso de los seropositivos se debe a que los métodos utilizados para llevar a cabo el diagnóstico (inmunofluorescencia e Inmunoperoxidasa), no es posible realizar la distinción entre anticuerpos derivados de virus vacunales y de anticuerpos derivados contra virus de campo; lo que hace suponer que los casos reportados como seropositivos y sospechosos, se deban a cepas vacunales, dado que no presentaron brotes en el período y en los lugares muestreados; estos resultados difieren con los de este estudio, debido a que el examen de Inmunoperoxidasa utilizado puede lograr diferenciar todas las cepas naturales de vPPC, cepas vacunales de vPPC y otros pestivirus, logrando evitar los falsos positivos y obtener un resultado más seguro en el presente proyecto, en donde se logró corroborar la ausencia de circulación viral en los predios analizados.

En otro estudio realizado por Monzón (2016) titulada: "Determinación de la presencia de la Peste Porcina Clásica (PPC) en la porcicultura de Guatemala en el año 2016, por medio de la prueba de reacción de la cadena de la polimerasa (PCR) en el laboratorio de referencia de sanidad animal LARRSA". Para la cual fueron analizadas 2 349 muestras de tonsilas y de las cuales obtuvo dos muestras positivas, a las cuales tuvo que realizarse otra vez la prueba con mayor cantidad de muestra para confirmar el diagnóstico, las cuales resultaron negativas. Concluyendo que la

prevalencia de la enfermedad en el país es de 0%, determinando así la ausencia de circulación viral de Peste Porcina Clásica. Estos resultados obtenidos coinciden con el presente trabajo en donde no se encontró la presencia de falsos positivos, esto se debe probablemente al tipo de prueba utilizada, y que el número de muestras analizadas es menor en comparación con el anterior trabajo de investigación donde se determinó la ausencia viral en una población más grande.

En otro estudio realizado por Roncano (2015) titulada : “Prevalencia de peste porcina clásica, en el cantón paute, provincia de Azuay, mediante las pruebas de inmuno ensayo enzimático “ELISA” anticuerpo (ac) y ELISA antígeno (ag) en donde realiza la investigación como respuesta a la presencia de brotes de peste porcina clásica en Cuenca – Ecuador en el 2012, en donde se colectaron y analizaron 151 muestras serológicas de la población porcina traspatio, en donde 66 de ellos que equivale al 43.7% se detectó la presencia de anticuerpos para el virus de PPC, y que 85 que representan el 56.3%, no presentaron anticuerpos. Luego aplicó la prueba confirmatoria ELISA ag, a los 66 casos que inicialmente fueron positivos a ELISA ac, resultandos negativos a esta: determinando así que la presencia de anticuerpos detectados no son resultados de la circulación viral post infección de PPC, sino a los anticuerpos post vacunales. Estos resultados

difieren de los obtenidos en nuestra investigación debido que no se presentaron anticuerpos de ninguna clase (ya sea por virus de campo o cepas vacunales) en los porcinos centinelas, considerando eficaz el plan de control y erradicación oficial que se realizó en los predios donde se desarrolló nuestra investigación; Para evitar este tipo de resultado se consideró animales sin la presencia de anticuerpos contra PPC como criterio de exclusión para la realización de la presente investigación.

En otro estudio realizado por Portilla (2006) titulada: "Determinación de la persistencia de los niveles de anticuerpos pasivos contra el virus de la peste porcina clásica en lechones nacidos de marranas con distinto programa de vacunación" afirma que la principal herramienta de control es la vacunación. Es importante porque va a proteger a los animales contra la mortalidad, demostrando que es una medida eficaz para el control de la enfermedad, siendo usada en muchos países donde gracias a los programas de vacunación y erradicación lograron eliminar la enfermedad. Concordamos con esta investigación, pues los resultados obtenidos en nuestra investigación lo denotan, ya que no hubo la presencia de otro brote posterior al del estudio, esto demuestra que la vacunación que se está realizando ha alcanzado una cobertura importante hasta la fecha, logrando controlar la enfermedad en nuestra ciudad.

CONCLUSIONES

1. No se observó la presencia de anticuerpos de origen infeccioso contra Peste Porcina Clásica, mediante el programa de centinelización.
2. Los resultados negativos obtenidos en nuestros resultados indican que no existe circulación viral en los predios de estudio, en un período de 0 a 45 días de centinelización.
3. El plan de control y erradicación oficial realizado en los predios de investigación se considera eficaz debido a que no existe la presencia del virus de campo en el lugar de estudio.

RECOMENDACIONES

- Realizar estudios de centinelización de PPC en una población más numerosa de animales y con mayor duración, en donde sea difícil la realización de un adecuado vacío sanitario.
- Realizar estudios de evaluación de conocimientos en porcicultores acerca de la prevención, control y erradicación de la Peste Porcina Clásica.
- Realizar un estudio comparativo con otras pruebas de laboratorio.
- Realizar estudios de vigilancia epidemiológica usando el programa de centinelización, en lugares donde exista otras enfermedades endémicas de gran impacto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agrocalidad, (2010). Programa nacional sanitario porcino. Recuperado el 11 de agosto de 2019 en [https://es.scribd.com/document/236870021/1-Programa Nacional-Sanitario-Porcino-AGROCALIDAD](https://es.scribd.com/document/236870021/1-Programa-Nacional-Sanitario-Porcino-AGROCALIDAD).

Agrocalidad, (2014). Reconociendo la peste porcina clásica. Recuperado el 11 de agosto de 2019 en <https://www.agrocalidad.gob.ec/wpcontent/uploads/2019/05/cvm1.pdf>

Aguilera, P. 2011. PCR en tiempo real. Recuperado el 22 de agosto de 2019 en <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/710/pcrtiempo.pdf>

Arias, M. (2006). Diagnóstico laboratorial para Peste Porcina Clásica (PPC). España.

Bañales, M., Lopez, V., Santillan, M. (1996). Evaluación del programa de centinelización de la fiebre porcina clásica en 83 granjas del

estado de Jalisco de mayo de 1995 a febrero de 1996. Guadalajara – México. Universidad de Guadalajara. Tesis para obtener el título de Médico Veterinario y Zootecnista.

Camacho, J. (2005). Resumen Noveno Seminario Internacional de Sanidad y Producción Porcina. Asociación Peruana de porcicultores: 219-224. Lima-Perú

Castellanos, E. (2011). Peste Porcina Clásica.

Código Terrestre, O. (2015). Capítulo 15 del Código Terrestre de la OIE, Peste Porcina. Recuperado de OIE: http://www.oie.int/index.php?id=169&L=2&htmfile=chapitre_asf.htm

Dunne, H. (1967). Enfermedades del cerdo. 2ª Edición. p 153-193. Editorial Hispanoamericana. México.

Enriquez T. (2013) Evaluación de perfiles serológicos de anticuerpos vacúnales para VPPC (Peste Porcina Clásica), en la granja San Luis del Cantón la Troncal. Ecuador. Universidad de Cuenca, Tesis previa a la obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista

Espinoza, L. (2014). Plan de Erradicación de la Peste Porcina en Guatemala, años 2014-2015. Guatemala

- Fauquet, C., M. A. Mayo, J. Maniloff, U. Desselberger, L. A. Ball. (2005).
Virus Taxonomy. Eighth Report of the International Committee
on Taxonomy of Viruses. Academic Press, San Diego, p. 16-
20.
- Figueroa, M. (1984). En Enfermedades infecciosas de los animales
domésticos en Centroamérica (págs. 20-23-45).
- Gabriela, R., Edwin, S., Andres, S., Jose, S. M., Wilson, S., & Lorena,
S. (2011). Sistema de vigilancia epidemiológica de la peste
porcina clásica. Quito.
- Gonzales, A. M. (2005). Manual para el control de las enfermedades
infecciosas de los cerdos. En A. M. González.
- Hernández, R., Fernández, C., Baptista, M. (2005) metodología de la
investigación, Quinta edición. México.
- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA).
(2000). Enfermedades exóticas de los animales. México.
- Lepoureau, M. & Abreu, M. (2003). Reconociendo la peste porcina
clásica. Roma.

- Moennig V, Schageman G, Dahle J, Greiser-Wilke I, Leder L. (1990).
Detección de anticuerpos contra el virus de la peste porcina clásica.
- Moening, V. (2000). Introduction to classical swine fever virus, disease and control policy. *Vet Microbiol.* 73, 93-102.
- Monzón, M. (2016). Determinación de la presencia de peste porcina clásica (PPC) en la porcicultura de Guatemala en el año 2016, por medio de la prueba de reacción de la cadena de la polimerasa (PCR) en el laboratorio de referencia de sanidad animal LARRSA. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
- Moormann, R. Van Gennip, G. Miedema, M. Hulst, P. Van Rijn. (1996). Infectious RNA transcribed from an engineered fulllength cDNA template of genome of a Pestivirus. *J. Virol.* 73: 763-770.
- Moormann R, Warmerdarn P, Van Der Meer B, Hulst M. (1990). Nucleotide sequence of hog cholera virus RNA: properties of the polyprotein encoded by the open reading frame spanning the viral genomic RNA. *Vet Microbiology.*

Morilla, A. (2003). Enfermedades virales emergentes de los cerdos. Recuperado el 5 de agosto de 2019 en <https://fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol9/CVv9c7.pdf>

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2003). Guía para la atención de focos y de situaciones de emergencia sanitarias de fiebre aftosa. Roma, Italia.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2003). Reconociendo la Peste Porcina Clásica, Manual ilustrado.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2006-2008). Peste porcina clásica. Oficina regional de la FAO para América Latina y el Caribe.

Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) (2019). Manual de las pruebas de diagnóstico para los animales terrestres 2019. Capítulo 3.8.3. Peste porcina clásica (Infección por virus de la peste porcina clásica) extraído de:

https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.08.03_Peste_porcina_cl%E2%80%A0sica.pdf

Portilla, K. (2006). Determinación de la persistencia de los niveles de anticuerpos pasivos contra el virus de la peste porcina clásica en lechones nacidos de marranas con distinto programa de vacunación. Tesis para optar el título de Médico Veterinario. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú.

Radostis, C., Bay, D., Blood, K., Hinchcliff. (2002). Medicina Veterinaria. Tratado de las enfermedades del Ganado Bovino, Ovino, Porcino, Caprino y Equino. 9ª edición. p 1456-1463. Editorial MacGraw Hill Interamericana Vol. II. España.

Real Academia Española (RAE). (2019). Diccionario de la lengua española, recuperado el 27 de agosto de 2019 de <https://dle.rae.es/>

Rivera, H. (1994). Peste Porcina Clásica: Una Revisión. RIVEP: Julio - Diciembre 1994, Vol. 7 N° 2. 75-82

Rocano, P. (2015). Prevalencia de Peste Porcina Clásica en el Cantón Paute provincia del Azuay, mediante las pruebas de Elisa Ac y Elisa Ag. Universidad de Cuenca. Tesis previa a la obtención

del título de Médico Veterinario y Zootecnista. Cuenca-Ecuador.

Romero, L., M. Arias, M., Agüero, J., Sánchez Vizcaíno. (1998). Diagnóstico laboratorial de la Peste Porcina Clásica. Porcimundo 47, 51-68.

Rondón, J. (2011). Vigilancia dirigida de influenza aviar en aves silvestres de los humedales de puerto viejo usando patos domésticos (*Cairina moschata*) como centinelas. Lima – Perú. Universidad Mayor de San Marcos. Tesis para optar el grado de magister en salud animal

Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú (SENAMHI). (2011). Recuperado de <https://www.senamhi.gob.pe/main.php?dp=tacna&p=estudios>.

Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA). (2005). Resumen Noveno Seminario Internacional de Sanidad y Producción Porcina. Lima-Perú. Asociación Peruana de Porcicultores: 62-76.

Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). (2005). Peste porcina clásica para veterinarios. Buenos Aires.

- Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA). (2011).
Procedimiento: control, prevención y erradicación de peste
porcina clásica. Lima – Perú.
- Spickler, A. R. (2015). *The Center for food Security & PublicHealth*.
Recuperado de: [http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/
disease.php?name=classical-swine-fever&lang=es](http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/disease.php?name=classical-swine-fever&lang=es).
- Terpstra, C., R. Woortmeyer, S. J. Barteling. (1990). Development and
properties of a cell culture produced vaccine for hog cholera
based on the Chinese strain. *Dtsch. Tierarztl. Wschr.* 97: 77-79.
- Tortora, J., Funke, B., & Case, L. (2007). *Introducción a la
microbiología*. Argentina: Médica Panamericana.
- Universidad Nacional del Rosario (UNR) (2007). Peste porcina clásica.
Obtenido de Inmunización frente al VPPC:
<http://www.fveter.unr.edu.ar/Objetos/Sueros/vppc.htm>
- University Iowa State. (2009). *Peste porcina clásica, recuperado el 20
de agosto del 2019 de: [https://www.cfsph.iastate.edu/
Factsheets/ es/!replaced/!peste_porcina_clasica.pdf](https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/!replaced/!peste_porcina_clasica.pdf)*.

Van Oirschot, J. (2003). Vaccinology of classical swine fever:from lab to field. *Vet. Microbiol.* 96: 367-384.

Van Regenmortel, M., Fauquet, H. Bishop, B., Carstens, K., Estes, M., Lemon, A., Maniloff, J., Mayo, J., McGeoch, C., Pringle, R., Wickner. (2000). *Virus Taxonomy: The classification and nomenclature of viruses. The Seventh Report of the International Committee on Taxonomic of Viruses.* San Diego.

ANEXOS

Anexo 1

Densidad óptica y porcentaje de bloqueo de la prueba de ELISA de bloqueo para Peste Porcina Clásica en el día 0, primer muestreo

ELISA para descarte de Peste Porcina Clásica						
PREDIO	IDENTIFICACIÓN DE ANIMAL	CÓDIGO DE LA MUESTRA	DENSIDAD ÓPTICA	% DE BLOQUEO	RESULTADO	
	1	6 601	A02719042180010	2.242	10%	Negativo
	2	6 603	A02719042180020	2.172	11%	Negativo
A	3	6 604	A02719042180030	2.057	15%	Negativo
	4	6 607	A02719042180040	2.364	7%	Negativo
	5	6 608	A02719042180050	2.150	12%	Negativo
	6	6 610	A02719043090060	1.555	9%	Negativo
	7	6 611	A02719043090070	1.570	8%	Negativo
B	8	6 612	A02719043090080	1.550	9%	Negativo
	9	6 613	A02719043090090	1.530	11%	Negativo
	10	6 617	A02719043090100	1.459	14%	Negativo

Anexo 2

Densidad óptica y porcentaje de bloqueo de la prueba de ELISA de bloqueo para Peste Porcina Clásica en el día 15, segundo muestreo

ELISA para descarte de Peste Porcina Clásica						
PREDIO	IDENTIFICACIÓN DE ANIMAL	CÓDIGO DE LA MUESTRA	DENSIDAD ÓPTICA	% DE BLOQUEO	RESULTADO	
	1	6 601	A02719043090010	1.646	4%	Negativo
	2	6 603	A02719043090020	1.560	9%	Negativo
A	3	6 604	A02719043090030	1.546	10%	Negativo
	4	6 607	A02719043090040	1.670	2%	Negativo
	5	6 608	A02719043090050	1.605	6%	Negativo
	6	6 610	A02719043300060	1.484	9%	Negativo
	7	6 611	A02719043300070	1.488	9%	Negativo
B	8	6 612	A02719043300080	1.456	11%	Negativo
	9	6 613	A02719043300090	1.507	7%	Negativo
	10	6 617	A02719043300100	1.478	9%	Negativo

Anexo 3

Densidad óptica y porcentaje de bloqueo de la prueba de ELISA de bloqueo para Peste Porcina Clásica en el día 30, tercer muestreo

ELISA para descarte de Peste Porcina Clásica						
PREDIO	IDENTIFICACIÓN DE ANIMAL	CÓDIGO DE LA MUESTRA	DENSIDAD ÓPTICA	% DE BLOQUEO	RESULTADO	
	1	6 601	A02719043300010	1.566	4%	Negativo
	2	6 603	A02719043300020	1.450	11%	Negativo
A	3	6 604	A02719043300030	1.499	8%	Negativo
	4	6 607	A02719043300040	1.598	2%	Negativo
	5	6 608	A02719043300050	1.580	3%	Negativo
	6	6 610	A02719043470060	1.390	10%	Negativo
	7	6 611	A02719043470070	1.449	6%	Negativo
B	8	6 612	A02719043470080	1.352	12%	Negativo
	9	6 613	A02719043470090	1.347	13%	Negativo
	10	6 617	A02719043470100	1.394	10%	Negativo

Anexo 4

Densidad óptica y porcentaje de bloqueo de la prueba de ELISA de bloqueo para Peste Porcina Clásica en el día 45, cuarto muestreo

ELISA para descarte de Peste Porcina Clásica						
PREDIO	IDENTIFICACIÓN DE ANIMAL	CÓDIGO DE LA MUESTRA	DENSIDAD ÓPTICA	% DE BLOQUEO	RESULTADO	
	1	6 601	A02719043470010	1.377	11%	Negativo
	2	6 603	A02719043470020	1.428	7%	Negativo
A	3	6 604	A02719043470030	1.448	6%	Negativo
	4	6 607	A02719043470040	1.356	12%	Negativo
	5	6 608	A02719043470050	1.509	2%	Negativo
	6	6 610	A02719043500010	2.113	15%	Negativo
	7	6 611	A02719043500020	1.997	20%	Negativo
B	8	6 612	A02719043500030	2.164	13%	Negativo
	9	6 613	A02719043500040	2.352	6%	Negativo
	10	6 617	A02719043500050	2.253	10%	Negativo

Anexo 5

Detección de Antígeno de Peste Porcina Clásica mediante la prueba de Inmunoperoxidasa, a los 45 días post ingreso de los animales a los predios afectados

PRUEBA DE INMUNOPEROXIDASA PARA PESTE PORCINA CLÁSICA					
PREDIO	IDENTIFICACIÓN DE ANIMAL	MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	RESULTADO	
A	1	6601	Amígdala	N02719000172401	Negativo
		6601	Bazo	N02719000172402	Negativo
		6601	Ganglios Linfáticos	N02719000172403	Negativo
	2	6603	Amígdala	N02719000172201	Negativo
		6603	Bazo	N02719000172202	Negativo
		6603	Ganglios Linfáticos	N02719000172203	Negativo
	3	6604	Amígdala	N02719000172501	Negativo
		6604	Bazo	N02719000172502	Negativo
		6604	Ganglios Linfáticos	N02719000172503	Negativo
4	6607	Amígdala	N02719000172301	Negativo	
	6607	Bazo	N02719000172302	Negativo	
	6607	Ganglios Linfáticos	N02719000172303	Negativo	
5	6608	Amígdala	N02719000172601	Negativo	
	6608	Bazo	N02719000172602	Negativo	
	6608	Ganglios Linfáticos	N02719000172603	Negativo	

Continúa página siguiente

Viene de la página anterior

B	6	6610	Amígdala	N02719000210601	Negativo
		6610	Bazo	N02719000210602	Negativo
		6610	Ganglios Linfáticos	N02719000210603	Negativo
	7	6611	Amígdala	N02719000210701	Negativo
		6611	Bazo	N02719000210702	Negativo
		6611	Ganglios Linfáticos	N02719000210703	Negativo
	8	6612	Amígdala	N02719000210801	Negativo
		6612	Bazo	N02719000210802	Negativo
		6612	Ganglios Linfáticos	N02719000210803	Negativo
9	6613	Amígdala	N02719000210901	Negativo	
	6613	Bazo	N02719000210902	Negativo	
	6613	Ganglios Linfáticos	N02719000210903	Negativo	
10	6617	Amígdala	N02719000211001	Negativo	
	6617	Bazo	N02719000211002	Negativo	
	6617	Ganglios Linfáticos	N02719000211003	Negativo	