

INTRODUCCIÓN

La parvovirus porcina es una enfermedad que ocasiona serios problemas reproductivos en suinos. Se caracteriza por infección embrionaria y fetal, originando reabsorción embrionaria, infertilidad, aborto, fetos momificados, nacimientos muertos, muerte neonatal y un número muy bajo de lechones por camada

La enfermedad se desarrolla, principalmente, cuando madres seronegativas están expuestas oronasalmente al virus en cualquier momento durante la primera mitad de la gestación; como consecuencia de ello los fetos son posteriormente infectados transplacentariamente antes de que se hagan inmunocompetentes. Estudios diagnósticos indican que el virus de la parvovirus porcina (PVP) es una de las principales causas de muerte embrionaria y fetal.

La enfermedad infecciosa a menudo provoca los mismos signos clínicos que se observarían si la causa estuviera relacionada con otros sistemas o con una infección generalizada, como temperatura elevada, inapetencia continuada, abortos, retornos anómalos al celo, lechones débiles o una mayor incidencia de lechones nacidos muertos, momificados o débiles.

Si no se observan estos signos, es probable que el problema esté relacionado con el manejo, causas fisiológicas o nutricionales. Cuando un análisis sanguíneo simple no aporta información serán necesarias pruebas de serología comparada para hacer un diagnóstico útil.

El conocimiento de estos métodos, le permite al Médico Veterinario confirmar un diagnóstico presuntivo e instaurar un tratamiento efectivo.

De otro lado, es indudable que un correcto tratamiento, acorde con el agente causal de la enfermedad, contribuye a la obtención de productos inocuos en las cadenas agroalimentarias de la producción pecuaria primaria, evitando riesgos biológicos para la salud humana y animal.

Los objetivos que se plantearon son:

Objetivo General:

Diagnosticar parvovirus en cerdas de traspatio en el barrio “Alpamalag” del cantón Pujilí provincia Cotopaxi.

Objetivos Específicos:

Establecer parvovirus mediante la prueba de Hemoaglutinación.

Determinar la edad más propensa en cerdas a esta enfermedad.

Realizar un análisis económico.

CAPITULO I

1.1.- GENERALIDADES

La porcicultura es la crianza de los cerdos con fines industriales conociendo todos los principios científicos en los cuales se fundamenta la crianza.

Saber la técnica o provecho que se puede sacar del cerdo según las condiciones del clima, facilidades del transporte, disposición de herramientas de trabajo, demanda de los productos y mercadeo. De todo esto se deducen las enseñanzas prácticas que se deben aplicar en el manejo de la industria, para que el porcicultor tenga el mínimo de gastos, egresos y mayor rendimiento económico, ingresos.(2)

La industria porcina requiere que las piaras estén libres de enfermedades infecciosas debido a que con ello se incrementa la producción. La presencia de microorganismos patógenos induce mayor morbilidad, mortalidad, reducción de la fertilidad y del peso corporal.

Los costos se elevan debido a que los animales tardan más días en ser mandados al camal. Por lo que se incrementa el consumo de alimento, medicinas, tratamientos y vacuna.(17)

1.2 ASPECTOS GENERALES

La porcicultura se puede tomar en primera instancia para el agricultor de escasos recursos, un medio de transformar en carne o grasa, productos de la granja o de la finca, ya sean espontáneos, o desechos de cultivos utilizables en la cría y alimentación del cerdo, que no

deben faltar en una explotación agrícola pues constituyen una fuente de ingresos, con pequeña inversión de capital. Además hay carne para el personal o trabajadores.

El otro aspecto es la Porcicultura como industria, esta requiere conocimientos de zootecnia, economía y administración, e inversión de capital con un sentido de responsabilidad y estudio planificado, con fines comerciales de hacer producir un alto porcentaje al capital invertido a amortizar el mismo a corto plazo.(19)

Este negocio sea en pequeña o grande escala no requiere gran capital para su iniciación, su cuidado y manejo no es muy complicado, solo falta conocimientos en la materia, para aprovechar por medio de la explotación del cerdo lo que hoy se desperdicia un 15% en el país sin ningún beneficio económico según ASPE 2009.

La demanda de carne es universal, todas las partes de su cuerpo se utilizan en una u otra forma. Además es un animal rústico que cuando se tiene en libertad parte de su comida se la busca el mismo y cuando se tiene recluso enferma poco y engorda rápido.(16)

El cerdo (*Sus scrofa domesticus*), es la especie animal cuyas bondades han sido apreciadas por el hombre desde tiempos inmemoriales. Se considera que es una de las especies con mayor potencial carnívoras, siendo la más consumida en el mundo. El cerdo doméstico llegó a América proveniente de España en el segundo viaje de Cristóbal Colón. Al Ecuador llega con la conquista y se afirma que la raza de dichos animales era la denominada raza ibérica.

La crianza del cerdo se hace atractiva para la crianza doméstica por ser un eficiente cosechador de gran variedad de materiales vegetales y consumidor de residuos domésticos que le sirven de alimento, representando en cierto modo una forma de generación de fuente de proteínas que no implicará mayores costos por el tipo de alimentación recibida.

La creciente importancia del cerdo como fuente de alimentación, ha llevado a la evolución de su crianza, pasando de formas de producción doméstica hacia formas de producción más intensivas, desarrollándose inclusive razas especializadas en producción de carne, disminuyéndose la producción de grasa, debido al creciente consumo de aceites vegetales.(21)

El último censo agropecuario que se realizó en el país fue en el 2000, el cual mostró que la población porcina del Ecuador es de 1'527 114 cerdos con un promedio de 3.5 cerdos por finca.

Según datos de la Asociación de Porcicultores del Ecuador, la producción de cerdos de traspatio, cerdos criados con desechos de cocina, es de más de 30 000 TM/año. El consumo estimado de carne de cerdo en el 1990 es de 5 kg./persona/año para el 2009 la cifra aumentó a 8.5 kg./persona/año.

El creciente incremento del consumo de carne de cerdo en el país hace necesaria también el incremento en la producción, pero una producción tradicional como la de los cerdos de traspatio sino una producción que sea más eficiente, con una mejor nutrición de los cerdos.
(28)

Entre las Enfermedades Víricas esta:

1.3 PARVOVIROSIS PORCINO (PVP)

La PVP provoca falla reproductiva caracterizada por infección, muerte y momificación de los embriones o fetos, usualmente sin signos en la cerda. Se desarrolla en hembras negativas expuestas por vía oro nasal durante la primera mitad de la gestación, con subsiguiente infección transplacentaria. Después del virus de PRRS, al Parvovirus porcino se le atribuye la mayor causa infecciosa de muerte embrionaria y fetal. (7)

1.3.1 Historia

El parvovirus porcino se detectó por primera vez como contaminante de preparaciones del virus de la peste porcina clásica. El primero en aislar el PVP en cerdos del continente americano fue Mengelin en 1972, quien lo aisló a partir de cornetes nasales de cerdos con rinitis. Tras su descubrimiento, rápidamente se relacionó con trastornos reproductivos, ya que el virus fue aislado de tejidos de fetos abortados, de lechones nacidos muertos y de fetos momificados.

La capacidad del PVP de replicar en fetos porcinos se demostró primero por la inoculación directa de fetos porcinos que se encontraban en el útero y posteriormente por la inoculación oronasal con el PVP de cerdas preñadas seronegativas. **(29)**

1.3.2 Etiología

Las características del PVP, lo ubican en la familia Parvoviridae, por tener genoma de ácido desoxirribonucleico (ADN) de cadena sencilla y cápside icosaédrica de 18 a 26 nanómetros aproximadamente. El virus presenta tres proteínas estructurales denominadas VP1, VP2 y VP3; la VP2 posee propiedades hemoaglutinantes, principalmente de glóbulos rojos de cobayo, rata, pollo, gato y del grupo "O" humano (2,26). **(15)**

La enfermedad es causada por un virus ADN, siendo el parvovirus porcino (PVP), uno de los virus más pequeños que se conocen (20 nm de diámetro. Cabe destacar que el PVP es extremadamente estable al calor, pH, enzimas y desinfectantes comunes; sin embargo, se inactiva fácilmente con hipoclorito sódico o hidróxido de sodio, por lo que el hipoclorito de sodio es el desinfectante elegido para su uso en locales contaminados.

El virus es termoestable, resistente a muchos desinfectantes y enzimas y permanece infectivo por meses en secreciones y excreciones. Aglutina glóbulos rojos de varias especies y esta característica se utiliza con fines diagnósticos.**(8)**

1.3.3Epidemiología

El PVP es ubicuo en los cerdos en todo el mundo y las infecciones con PVP son enzoóticas en la mayoría de las explotaciones con poblaciones densas de cerdos. En tales explotaciones casi el 100% de los animales adultos de más de un año son seropositivos.

Cuando nacen, los lechones son seronegativos, pero adquieren pasivamente los anticuerpos al mamar el calostro rico en estos. Los anticuerpos adquiridos pasivamente protegen a los cerdos neonatales de la infección con PVP y persisten entre 3 y 6 meses. **(23)**

Las cerdas primerizas o al inicio de la gestación presentan riesgos de trastornos reproductivos inducidos por el PVP. El virus se transmite por la ruta oro-fecal. Tras la exposición de los animales seronegativos, el PVP replica principalmente en tejidos linfoides y en los pulmones, pero puede detectarse en todos los tejidos, excepto en el cerebro. La viremia se detecta normalmente 2-3 días después de la infección, persiste unos 4-5 días y se cree que juega un papel importante en la infección transplacentaria del PVP. **(10)**

El virus persiste en el animal infectado durante mucho tiempo, posiblemente durante toda la vida del cerdo, ya que en los animales infectados, se mantienen elevados títulos en suero durante largo tiempo. El tiempo para la infección transplacentaria de los fetos es alrededor de las dos semanas.

En camadas infectadas, todos o algunos de los cerdos podrían ser infectados directamente por infección transplacentaria con PVP. También hay difusión intrauterina a fetos adyacentes. Esto se demuestra por la gradación en tamaño de los fetos momificados, correspondiente al tiempo de muerte fetal. **(1)**

El virus se mantiene fácilmente en el ambiente contaminado durante largos períodos de tiempo. En un estudio se observó que la infectividad se mantuvo durante cuatro meses en un establo vacío contaminado.

Las heces cargadas con virus son la fuente principal del virus en el medio ambiente; sin embargo, el virus también está presente en secreciones y excreciones. Los verracos también podrían ser una fuente de infección, especialmente durante los estados agudos de la infección, ya que se ha detectado PVP en el semen de verracos.

Parvovirus es ubicuo y endémico con distribución mundial. Las cerdas inmunizadas eliminan anticuerpos por calostro que se degradan con el tiempo, pero que pueden dar una protección hasta los 3 a 7 meses de edad. Esta inmunidad pasiva interfiere el proceso natural de infección y el desarrollo de Inmunidad activa, lo que afecta la difusión de la

enfermedad. Las lechonas en desarrollo y primerizas contaminadas son el principal reservorio. (6)

1.3.4 Signos clínicos

La infección aguda es subclínica, aunque puede presentarse leucopenia transitoria. La única respuesta a infección es falla reproductiva en la cerda gestante infectada en la primera mitad de la gestación.

Las secuelas dependen del período en que ocurre la infección, por lo que se pueden presentar: cerdas repetidoras, falladas, con pocos lechones nacidos totales por muerte embrionaria y reabsorción, alta proporción de lechones nacidos momias que reflejan muerte fetal; y también se reportan infertilidad y abortos. (15)

1.3.5 Patogénesis

Los trastornos en la reproducción son la única enfermedad consistente y reconocida asociada con la infección porcina por PVP, en hembras preñadas está influenciada por el tiempo de gestación en el momento de la infección y la cepa del virus. Los trastornos reproductivos en cerdas seronegativas tienen lugar tras la exposición oronasal durante la primera mitad de la gestación.

El PVP cruza la barrera transplacentaria, infecta y mata al feto de 70 días o incluso más joven. La infección de las cerdas durante las dos primeras semanas de gestación da lugar a la muerte y reabsorción del embrión. La única manifestación clínica observada en las cerdas es el retorno al estro, lo que normalmente pasa desapercibido. (3)

La infección durante la primera mitad de la gestación (aproximadamente 56 días), da como resultado la muerte y momificación del feto. Se obtienen resultados similares cuando se inocula directamente al feto con PVP, hasta los 70 días de la gestación.

Los fetos de más edad, aunque son susceptibles a la infección, por ser inmunocompetentes, es decir, tienen capacidad para una respuesta inmunológica, por lo que están protegidos de los trastornos reproductivos inducidos por el PVP.(24)

Cuadro N 1 ETAPAS Y CONSECUENCIAS EN LOS FETOS POR EL CONTAGIO DE PARVOVIROSIS

Infección de la cerda	Tiempo de infección del feto (días de gestación)	Resultado de la infección	Enfermedad clínica
< 56	10-30	Muerte embrional y reabsorción	Gran número de cerdas retornando al estro.
	30-70	Muerte fetal y momificación	Camadas menores con fetos momificados
>56	70-término	Normalmente no hay efectos dañinos, los fetos inmunocompetentes infectados producen anticuerpos	Habitualmente ninguno

Fuente: GONZÁLEZ, G. y M. TORRES. 1993

Hembras gestantes infectadas en la 1ª mitad de la gestación el virus causa muerte embrionaria y fetal con reabsorción o momificación. En estados más avanzados de la gestación no se presentan secuelas. Después de la infección ocurre viremia, el virus pasa a placenta y posteriormente a los fetos.

La infección transplacentaria requiere 10 a 14 días en llevarse a cabo y puede haber infección intrauterina parcial de los lechones. El virus no afecta tejidos maternos. Los fetos mueren por daño colectivo a tejidos, incluyendo placenta. **(16)**

1.3.6 Diagnóstico

La falla reproductiva con muerte embrionaria o fetal sin efecto en las cerdas gestantes es sugestiva (siempre hacer diferencial con PRRS). En un hato endémico la falla se presenta en forma marcada en el grupo de lechonas primerizas. Hay prueba serológica de Inhibición de la hemoaglutinación en sueros o aglutinación directa en líquidos fetales. **(1)**

1.3.7 Lesiones

Las lesiones en las cerdas infectadas se limitan principalmente a los úteros grávidos y los fetos. Las lesiones en embriones incluyen muerte, reabsorción de líquidos y reabsorción de todo el embrión.

Las lesiones por infección de los fetos, antes de que éstos se vuelvan inmunocompetentes, incluyen muerte, decoloración hemorrágica, acumulación de líquidos serosanguíneos en las cavidades del cuerpo, reabsorción de los líquidos fetales y momificación. Los virus o antígenos virales están presentes en la mayor parte de los tejidos fetales.

No se detectan cambios macroscópicos en cerdos que sean inmunocompetentes en el momento de la infección. **(5)**

1.3.8 Prevención

La epidemiología de la PVP se puede modificar de acuerdo al estado inmunitario del hato y los sistemas de producción multisitios, por lo que una proporción importante de lechonas de reemplazo a los 6 o 7 meses de edad pueden ser susceptibles al PV. Las prácticas para provocar infección natural en lechonas como “feed back” con excremento o placentas de la granja de destino, o mezclar cerdas viejas con lechonas son inconsistentes y riesgosas. **(11)**

Pocos animales exhiben enfermedad clínica como resultado de infección por parvovirus porcino. Este virus se encuentra en la mayoría de las piaras, pero los animales que hayan sido expuestos con anterioridad desarrollan inmunidad.

El parvovirus porcino atraviesa la placenta e infecta a los fetos en desarrollo. Las hembras no inmunes, infectadas durante la primera mitad de la gestación, generalmente tendrán varios fetos momificados al parto.(4)

Las lechonas son afectadas con más frecuencia que las cerdas adultas.

Si la infección ocurre durante la preñez se presentarán nacidos muertos, lechones muertos al nacer, lechones débiles e infertilidad. Los abortos son poco comunes. Si la infección ocurre al final de la preñez, los lechones generalmente sobreviven.

Debido a que el parvovirus porcino está ampliamente diseminado en las piaras, todas las lechonas deben ser expuestas naturalmente o vacunadas por lo menos 30 días antes del servicio.No hay tratamiento contra la infertilidad inducida por el parvovirus porcino, pero los animales infectados en forma natural son inmunes de por vida.(7)

El Parvovirus porcino (PVP) es un agente viral asociado a fallas reproductivas, las epidemias de parvovirus en las granjas porcinas se manifiestan por disminución en la tasa de concepciones, incremento en la frecuencia de fetos momificados y en el número de mortinatos, lo que representa en conjunto reducción del tamaño de la camada reportan que en una granja afectada en forma enzoótica la disminución en el número de cerdos puede alcanzar valores de 0.4 a 2.36 cerda/año ó 0.26 a 1.82 primeriza/año.

Además, las pérdidas monetarias asociadas a las fallas reproductivas por PVP se relacionan con el estado de seropositividad de las granjas.(3)

Para su propagación el PVP requiere células en proceso activo de división; su estudio en el laboratorio se ha realizado con cultivos de tejidos de origen porcino. (22)

1.3.9 Causas infecciosas de infertilidad en cerdas

El aborto es la expresión más dramática de pérdida de producción. Cuando en un rebaño determinado aumenta su incidencia, se suele sospechar que existe un agente infeccioso. El aumento de abortos puede seguir a la adición de animales de reemplazo o a la mezcla de grupos de animales que anteriormente estuvieron separados. Aproximadamente el 38% de los abortos diagnosticados se atribuyen a causas infecciosas.

La etapa de gestación durante la cual la cerda y/o los fetos son infectados será la que determine la capacidad de sobrevivencia de la camada. En algunos casos, el agente infeccioso afecta directamente el desarrollo de los fetos y las placentas, causando compromiso fetal y la muerte.(12)

Cualquier enfermedad grave de la cerda preñada puede resultar en muerte de los fetos, debido a la interrupción de la normalidad del ambiente uterino. Pueden perderse uno, varios o todos los fetos de la camada. Si la infección ocurre a menos de los 35 días de gestación, los fetos pueden ser reabsorbidos.

Si ocurre entre los días 35 y 70 días de gestación, los fetos se momifican. Si es después del día 70, puede ser que los lechones nazcan débiles o muertos. (24)

1.4 PRUEBAS DIAGNÓSTICAS PARA DETECCIÓN DE PARVOVIROSIS EN CERDAS

1.4.1 Pruebas serológicas

Ninguna prueba serológica es 100% específica y sensible. Todas las pruebas tienen pros y contras en sus procesos y resultados

La interpretación de los resultados serológicos es uno de los puntos más importantes en el proceso de diagnóstico, por esta razón es importante conocer los fundamentos de cada prueba. El tomar la muestra representativa es de vital importancia para que los resultados que obtengamos sean representativos y confiables. En forma general, un muestreo de 30

sueros provee una confianza del 95% cuando suponemos tener una prevalencia de al menos 10%. (c)

1.4.1.1 Inmunoensayo enzimático (ELISA)

Es una técnica indirecta que utiliza un sistema de proporción muestra a positivo (S/P). IDEXX ofrece un kit que tiene la ventaja de utilizar la cepa Lelystad (europea) y una americana del PVP, por lo que es una magnífica alternativa para el diagnóstico. Posee una sensibilidad del 95% y una especificidad del 95% además de ser rápida. (d)

La prueba de ELISA es una prueba serológica utilizada rutinariamente en los laboratorios de diagnóstico de todo el mundo. La prueba de ELISA detecta la formación de anticuerpos frente a PVP de 9 a 13 días después de la exposición al virus. Los resultados se presentan en forma de proporción de muestra a positivos (s/p) donde niveles de 0,4 o superiores se consideran positivos. (a)

Los animales persistentemente infectados con PVP pueden ser serológicamente positivos a la prueba de ELISA durante 56 a 225 días después de la infección. Por lo tanto, la presencia de un anticuerpo en un animal vivo no vacunado, en ausencia de una viremia detectable, es indicativa de una de las siguientes situaciones:

1. El animal está persistentemente infectado con PVP presente en un punto tisular.
2. El animal ha eliminado el virus y ya no está infectado
3. Se ha producido un resultado falso positivo debido a un error en la especificidad de la prueba. (k)

Debido a características del PVP (períodos de actividad y de reposo; 80% de prevalencia en las piaras) la información serológica de una muestra no es suficiente para diagnosticar PVP en la pira. Los resultados positivos pueden o no indicar que PVP ha provocado la enfermedad. La serología negativa a PVP en una muestra en el tiempo puede tener también tener varias interpretaciones como pueden ser:

- Los cerdos no están infectados con PVP.

- Los cerdos fueron infectados recientemente con PVP pero aún no han seroconvertido.
- Los cerdos fueron infectados con PVP pero son seronegativos.
- La prueba empleada fue negativa debido a una baja sensibilidad o error de laboratorio.(15)

La prueba de ELISA comercial presenta los resultados como lecturas de densidad óptica S/P (muestra/suero control positivo), no son títulos de anticuerpos. En este caso se considera positiva una lectura de ELISA S/P de 0.40 o mayor con casos positivos con infecciones severas que puedan llegar a lecturas entre 1.5 y 4.0.

Las infecciones recientes pueden mostrar valores S/P hasta de 2.5. Hasta el presente no existen pruebas diferenciales para distinguir infecciones de campo de la respuesta vacunal.

(d)

1.4.1.2 Inmunofluorescencia indirecta (IFA)

Esta prueba detecta IgG, las que aparecen de 7 a 11 días postinfección, con una producción máxima a los 30-50 días y declina hasta ser detectable alrededor de 4 a 6 meses postinfección. Esta técnica consiste en poner la muestra del suero sospechoso en contacto con células infectadas por PVP.(1)

Para posteriormente buscar evidencia de la reacción antígeno-anticuerpo mediante la utilización de un anticuerpo contra PVP conjugado con fluoresceína. Es una prueba rápida, económica y específica con 99.5% de especificidad.

La prueba de IFA sólo puede detectar anticuerpos producidos contra las cepas que se encuentren altamente relacionadas con la cepa que es utilizada en la prueba. En forma general, es necesario realizar dos pruebas simultáneas, una con la cepa norteamericana y otra con la cepa europea. (f)

1.4.1.3 Neutralización viral en suero (SVN)

Es una prueba específica, pero de baja sensibilidad. Los anticuerpos detectables por esta técnica perduran por más tiempo que los detectables por IFA y ELISA. No es una prueba muy utilizada en la actualidad, debido al costo de realización y al tiempo de respuesta para los resultados.

Para una evaluación diagnóstica definitiva de PVP con respecto a infección actual se sugiere que la información serológica sea interpretada en combinación con los resultados de histopatología, microbiología e historia clínica. **(b)**

Prácticamente todas las perras están infectadas con parvovirus. Por lo general, la infección natural estimula la producción de altos títulos de anticuerpos. Los títulos (niveles) de anticuerpos vacunales por hemoaglutinación, por lo general son menores de 1:256. La inmunidad materna puede persistir por hasta 7 meses.

Se considera un virus habitual en las explotaciones porcinas. Los problemas reproductivos ocurren en hembras de reemplazo que no hayan sido vacunadas o expuestas al virus de campo antes del servicio. Se considera que un título de 1:512 o mayor sugiere exposición a la infección natural o de campo. **(a)**

1.5 TOMA DE MUESTRA.

La posición adecuada y sujeción efectiva del animal son esenciales para un muestreo con éxito. La práctica apacible y suave deberá minimizar la necesidad de manejo físico humano. **(11)**

No solo deben ser minimizados los trastornos físicos y psíquicos sobre bases humanitarias, sino también porque la sangre tomada de un animal asustado, adrenalizado, puede originar resultados equivocados en varios análisis, por ejemplo, la glucosa y los ácidos grasos no esterificados. **(13)**

El sitio de punción debe estar limpio y libre de patógenos, esto incluye recortar el pelo, lavarlo con jabón, detergente o solución yodada en dos veces y después realizar una

limpieza con alcohol. La asepsia debe realizarse en sentido contrario al crecimiento del pelo del animal y en forma circular del centro hacia la periferia.

Después de la punción el sitio debe dejarse seco, limpio y libre de sangre ya que cualquier humedad o materia orgánica favorece las infecciones. **(21)**

1.6 SITIOS DE PUNCIÓN EN EL CERDO

La sangre venosa es la muestra más común obtenida de los animales. Las técnicas varían de una especie a otra, según la localización de los vasos sanguíneos convenientes y el espesor, dureza y capa de la piel.

Se usan las venas de las orejas (auricular media y auricular lateral) y cola y la vena cava anterior. Además, se puede citar la vena safena, y en casos normalmente experimentales, la vena porta o la punción cardiaca directa. **(10)**

De la oreja se toma sangre por una incisión pequeña de la vena con bisturí o por punción con una aguja. Para la vena yugular externa se sitúa lateralmente al animal, buscando la zona ventral del cuello e introducir la aguja en el surco yugular del cuello en dirección caudo-medio-dorsal por delante de la articulación del encuentro.

Usar agujas de 25 mm de longitud para animales pequeños (hasta 50 kgs) y agujas de 38 – 40 mm para animales mayores de diferentes edades. Los cerdos se inmovilizan mediante cepo aunque también se usa el lazo cuando los animales aún no son excesivamente pesados. **(8)**

El cerdo posee un seno venoso que se aloja en el suelo de la órbita. Para la punción del seno venoso, introducir al animal en la jaula, fijar el cuello mediante dos barras que se aprietan a voluntad situadas en el extremo del cepo, e introducir la aguja de 38 – 40 mm por el ángulo medial del ojo, por detrás o a través de la membrana nictitante, y dirigiéndola ventro-medio-caudal. El seno venoso oftálmico del cerdo está a 2 – 4 cm de profundidad. La misma lágrima asegura que el campo de abordaje esté extremadamente limpio. **(4)**

1.7 TÉCNICA DE EXTRACCIÓN DE SANGRE

1. Antes de punzar una vena superficial, es de gran ayuda confirmar su localización y su funcionalidad mediante la aplicación de una presión digital por unos momentos hasta que se detecte la distensión. Esto señala la posición de la vena.
2. Se prepara la piel previa tricotomía y/o rasurado del pelo y se limpia el área con cualquier antiséptico utilizado en cirugía. Este debe dejarse evaporar, antes de introducir la aguja dentro de la vena.
3. Generalmente es necesario ingurgitar la vena mediante la aplicación de presión con los dedos o un torniquete solo ligeramente apretado y que el éxtasis venoso local no se mantenga por un período superior a 2 minutos antes de tomar la muestra para no producir alteraciones en las proporciones celulares de la sangre.
4. Se inmoviliza la vena estirando la piel sobre la misma.
5. Se introduce la aguja con un ángulo de 30°; ésta debe tener un buen filo para minimizar traumatismos y para facilitar la operación (o la introducción) y además evitar la contaminación con fluidos tisulares que por su gran contenido en tromboplastina pueden resultar en una agregación plaquetaria o en una coagulación parcial o total de la muestra, lo que nos invalida su posterior utilización.
6. Con una ligera tracción del émbolo de la jeringa determinará si estamos en vena.
7. En caso afirmativo la sangre debe fluir libremente hacia la jeringa, se debe evitar la succión violenta que puede provocar el colapso de la vena por el vacío que produce.
8. Luego se extrae la aguja, interrumpiendo la presión que se ejercía en la vena.
9. Se comprime por algunos minutos la piel sobre el punto de punción con un algodón embebido en antiséptico.

10. Para transferir el contenido de la jeringa a un recipiente con anticoagulante apropiado se debe separar la aguja y descargar la sangre haciéndola deslizar suavemente por las paredes del tubo que deberá ser tapado inmediatamente.

11. Luego se procede a hacerlo rotar suavemente entre índice y pulgar, inclinando levemente el tubo en forma alternativa, hacia arriba y abajo permitiendo así la correcta homogeneización de la sangre con el anticoagulante.

Es aceptable un volumen de sangre de 5 ml. para un adecuado estudio hematológico de rutina; en especies menores (canino, felino) este volumen puede reducirse a 2 ml.(10)

Una vez obtenida la muestra es conveniente procesarla inmediatamente. En caso contrario se debe colocar en un refrigerador a 4°C y desecharse después de haber transcurrido más de 24 hs.

Si sólo se requieren unas gotas de sangre, éstas se obtienen rasurando un área de la superficie externa de la oreja, cerca del borde y luego de realizar la antisepsia de la zona, se pinza la vena con una aguja o un instrumento puntiagudo adecuado. (20)

También se puede obtener pequeñas cantidades por punción de los pulpejos digitales (en pequeñas especies). En grandes animales (cerdo, bovino) por un corte en la punta de la cola o una pequeña incisión en la mucosa de los labios.

Las agujas y jeringas utilizadas deben ser perfectamente secas, de lo contrario puede producir hemólisis. La hemólisis dentro de una aguja está directamente relacionada con diámetro dentro del conducto y la velocidad de flujo.(18)

1.8TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS AL LABORATORIO

Punción y agujas: Vena auricular media o auricular lateral. Utilización de agujas N° 18. Agujas de calibre N° 1.5

Empaque de muestras: Considerando que las muestras biológicas son potencialmente infecciosas, se recomienda el transporte de manera adecuada y responsable, para lo cual se deben seguir las siguientes recomendaciones mínimas:

Protegerlas de temperaturas extremas

Proteger las personas que estén en contacto con la muestra

Evitar la exposición de agentes infecciosos

1.9 CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA.

Las muestras de suero o plasma previamente separadas de las células, pueden conservarse a temperatura ambiente (20-30°C) durante un día sin que se deterioren, en la parte refrigerada de un frigorífico (4°C) durante 4 días; en el congelador (-15 a -20°C) durante una semana o indefinidamente. **(8)**

Particularmente, debe evitarse hacer congelaciones y descongelaciones repetidas para que las enzimas no pierdan su actividad inicial.

Las muestras congeladas deben descongelarse lentamente hasta la temperatura ambiente, y entonces las muestras descongeladas se deben mezclar completamente por inversión. De esta manera se conservaran mejor los metabolitos, se obtendrán resultados mas acertados y diagnósticos más exactos. **(f)**

CAPITULO II

2.1 UBICACIÓN DEL ENSAYO

Ubicación Política.

La presente investigación se realizó en la parroquia Alpamalag perteneciente al cantón Pujili de la provincia Cotopaxi.

Esta situada a 2961 m.s.n.m. con una longitud de 78° 54' 0 W. y una latitud de 0° -59' 60 S.

Las condiciones climáticas que presenta la zona son:

Clima: Templado

Temperatura media: 14°C.

Precipitaciones: 12,40 a 87,60 %.

Velocidad del viento: 3-5 m/s.

Fuente: www.googleearth.com

MATERIALES Y MÉTODOS

2.2 MÉTODO

Para cada uno de los animales se utilizó materiales de punción individual y para el análisis de la muestra se realizó hojas grupales, para facilitar la tabulación de datos y el análisis de las muestras de las cerdas.

2.2.1 Método Científico o Experimental.

La investigación experimental consiste en la manipulación de una o más variable experimental no comprobada, en condiciones rigurosamente controladas, con el fin de describir de qué modo o por qué causa se produce una situación o acontecimiento particular. **(d)**

Después de haber obtenido las muestras, fueron mantenidas a 4°C. para su posterior transporte hacia el laboratorio La Quinta Pata del Gato ubicado en la ciudad de Latacunga de propiedad del Dr. David Moreno.

2.2.2 Investigación Exploratoria

La parte exploratoria sirvió para determinar la ubicación de los posibles animales a muestrear.

2.2.3 Investigación de Campo y Laboratorio

2.2.4 La Investigación de Campo

Permitió observar instalaciones, alimentación, condición corporal y realizar una anamnesis de cada una de las hembras a muestrear, en algunos casos hubo un grado de desconfianza por parte de los propietarios que posterior a la respectiva explicación permitieron realizar el estudio. **(a)**

2.4.5 La Investigación de Laboratorio.

Con las muestras recolectadas en los tubos de ensayo sin anticoagulante se dejó reposar por 2 horas a pico de flauta para proceder a extraer el suero, con lo cual se trasladó al Laboratorio del Dr. David Moreno ubicado en la ciudad de Latacunga, realizando la prueba de hemoaglutinación de eritrocitos, con lo cual se podrá observar los correspondientes análisis. En este proceso no se utilizó la centrifuga, se dejó reposar las muestras.

2.3 Método Deductivo.

Un investigador propone una hipótesis como consecuencia de sus inferencias del conjunto de datos empíricos o de principios y leyes más generales. Es la vía primera de inferencias lógico deductivo para arribar a conclusiones particulares a partir de la hipótesis y que después se puedan comprobar experimentalmente. (c)

La presente investigación servirá para conocer la existencia de parvovirus en la parroquia Alpamalag cantón Pujilí provincia Cotopaxi

2.4 Método Inductivo.

Es el razonamiento que, partiendo de casos particulares, se eleva a conocimientos generales. Este método permite la formación de hipótesis, investigación de leyes científicas, y las demostraciones. La inducción puede ser completa o incompleta.(7)

Se utilizó este método en la investigación como un principio de leyes científicas, por las razones que no existen estudios de presencia de parvovirus en cerdas en la parroquia Alpamalag perteneciente al cantón Pujilí.

2.5 MATERIALES USADOS EN LA EXTRACCIÓN DE SANGRE EN CAMPO.

2.5.1 MATERIAL BIOLÓGICO

Para el presente trabajo de investigación se utilizaron 50 cerdas de la parroquia Alpamalg cantón Pujilí provincia de Cotopaxi, siendo estos animales criados en traspatio, todas ellas mestizas.

Identificación de animales.

Los animales no presentaron una identificación; por tal razón en el presente muestreo las identificaremos de acuerdo al orden de casa de la muestra recolectada. Los tubos de ensayo tendrán los siguientes datos:

Tubo de ensayo

1. Nombre, dirección, teléfono del propietario
2. Ubicación de la toma de la muestra.
3. Raza y edad del animal.

2.5.2 MATERIALES, EQUIPOS E INSTALACIONES

2.5.2.1 Recursos

- Transporte.
- Alimentación.

2.5.2.2 Materiales

- Materiales de oficina.
- Impresora.
- Horas de internet.
- Computadora.
- Overol.
- Botas.

- Equipo de sujeción.
- Hielera.
- Gillette

2.5.2.3 Substancias

- Desinfectante Alcohol 78°.
- Jabón

2.5.2.4 Equipos

- Cámara fotográfica.
- Agujas para vacutainer.
- Tubos de ensayo sin anticoagulante.
- Vacutainer.
- Jeringuillas de 5 ml.
- Agujas calibre N° 18

2.5.2.5 Artículos de oficina.

- Hojas de papel bond.
- Esferos.
- Marcadores
- Lápiz

2.6 PERFIL SEROLOGICO DE PARVOVIRUS

a) Ciclo del Virus

El parvovirus infectan las cerdas de casi todas las granjas porcinas. La infección ocurre en el tracto gastrointestinal y es inocua, excepto para las hembras gestantes que no tengan anticuerpos circulantes; en este caso infecta al feto, este muere y se momifica. **(16)**

b) Prueba Serológica

Inhibición de la Hemoaglutinación (IH)

Algunos virus poseen en su envoltura proyecciones cortas de una constitución química definida (glicoproteína) denominadas hemoaglutininas. Estas tienen la propiedad de unirse a glóbulos rojos de ciertas especies animales, formando una suspensión, un enredado de glóbulos rojos-virus. (7)

c) Análisis del Seroperfil

1. Se debe tener más del 70% de las hembras de reemplazo, primero y segundo parto con anticuerpos y por lo menos el 80% del resto de las hembras adultas. Con esta seroprevalencia no es necesario vacunar a los animales e indica que estos últimos se están infectando en forma natural. (14)
2. Cuando la seroprevalencia de las hembras de reemplazo y de primero y segundo parto son menores al 70%, podría ocasionalmente presentarse parvovirus en algunos de estos animales, Si la seroprevalencia es menor al 40%, se corre el riesgo de que se pueda presentar un brote por el gran número de animales susceptibles. En este caso, se deben vacunar a todas las hembras de cría y mezclar hembras viejas con jóvenes, para que se infecten naturalmente.
3. Cuando los cerdos de engorda tienen anticuerpos en indicativo de que el virus se encuentra circulando en la granja. Esto se puede aprovechar para incrementar la inmunidad en las hembras de cría jóvenes, por medio de la exposición con las heces. (20)
4. Se considera positivo a un suero a partir de un título de 1: 160 o 1: 320, estos últimos muestran que los anticuerpos fueron inducidos por virus de campo; con la vacunación rara vez se alcanza este título.

5. Títulos de mas de 1: 5, 120 en un gran numero de sueros podría ser indicativo de un brote por parvovirus. (15)

2.7 Requisitos para el envío de muestras para exámenes serológicos

2 ml mínimo de suero por cada prueba. Para la obtención del suero, el volumen de sangre a tomar no debe ser inferior a 5 ml. La sangre se colecta en tubos al vacío sin anticoagulante. Las muestras de sangre se pueden dejar en un plano inclinado a temperatura ambiente o a 36-37°C durante 30 min. hasta que se forme el coágulo. Si es posible, se debe extraer el suero en la forma más aséptica después de centrifugación.(7)

Si los sueros se envían en el término de 8 horas, se pueden refrigerar a 4°C. Si el envío toma más tiempo, se pueden conservar congelados entre -20 y -30°C hasta el envío al laboratorio.

Enviar las muestras en viales o tubos plásticos bien tapados.

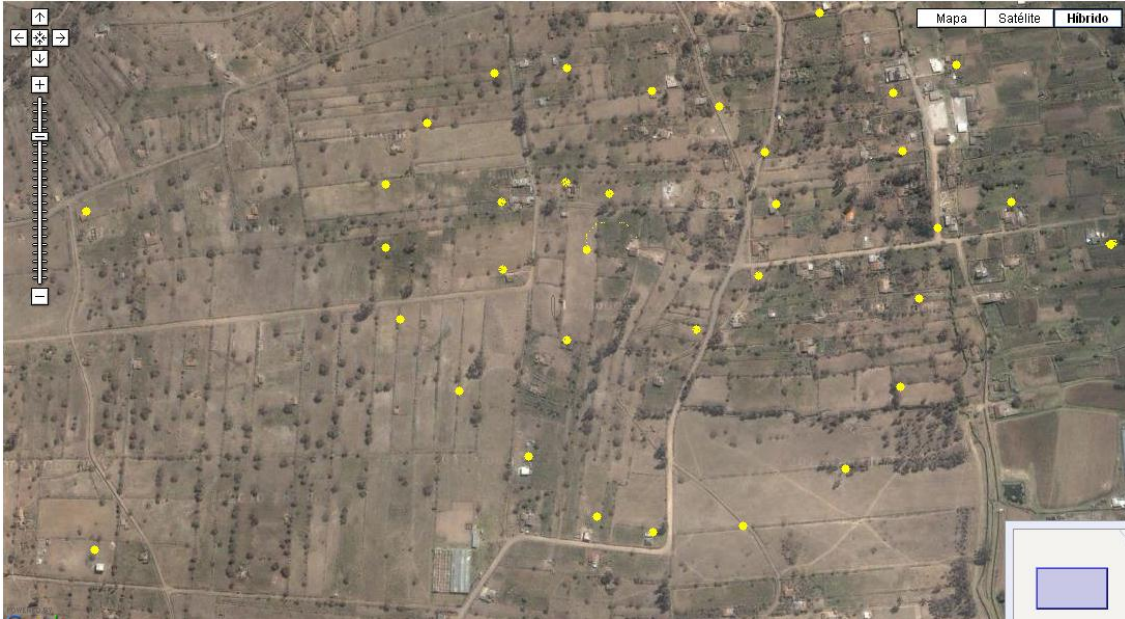
Todos los viales se deben identificar en orden consecutivo. En el formulario de remisión o documento adjunto se describe el número del tubo y la identificación que corresponde para cada animal.(12)

2.8 MANEJO DEL ENSAYO

La recolección de las muestras sanguíneas de las 50 cerdas se las hizo de manera aleatoria en sentido antihorario (al contrario de las manecillas del reloj), previo la realización de encuestas y localización de los animales en la parroquia Alpamalag.

Una vez con el permiso de los dueños de los animales y con los materiales estériles y desechables se procede a extraer la sangre de la vena auricular media o lateral con jeringuillas de 5 cc y agujas calibre N° 18.

PARROQUIA ALPAMALAG: SITIOS DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS



Fuente: www.googleearth.com

2.9 PROCEDIMIENTO EN LABORATORIO

- 1.- Se coloca una gota de 0,025 ml de PVP en cada orificio de la policubeta, excepto en el primer orificio de la primera columna.
- 2.- Se colocan 0,25 ml de suero tratado y diluido 1/5 en cada orificio de la primera columna, utilizando una pipeta para cada suero. Se agrega una gota de 0,025 ml al segundo y último orificio.
- 3.- Proceder a diluir en proporciones constantes con los microdiluidores de 0,025 ml, desde el segundo hasta el penúltimo orificio.

- 4.- Agregar la suspensión de virus con pipeta de 0,025 ml una gota de 0,025 ml por orificio, excepto en el último orificio (control de inhibidores hemoaglutinantes no específicos, presentes en el suero problema).
- 5.- Dejar una hora a temperatura ambiente (unión virus – anticuerpo).

- 6.- Agregar una gota de 0,05 ml de la suspensión de glóbulos rojos (1/120) a cada orificio, incluyendo los controles de suero.

- 7.- Mezclar suavemente. Dejar a 4° C durante 4 horas.

- 8.- Lectura: no debe observarse hemaglutinación en los controles de suero. La titulación de virus debe corresponder a 8 UHA/ 0,025 ml.