



INVESTIGACION SEROLOGICA DEL VIRUS DE SEUDORRABIA EN EL ECUADOR

Autores: M.G. García DMVZ, S.E. Pazmiño DMVZ
W.A. López DMVZ MS y K. CH. Yiin DMV MS.

Entre las muchas enfermedades que afectan a los cerdos, la seudorrabia es una enfermedad infecciosa aguda de tipo viral, con una alta tasa de mortalidad para cerdos lactantes, causante de abortos, cuadros neumónicos y disturbios en el sistema nervioso central, que ha llegado a ser una de las enfermedades de mayor importancia económica en las zonas de producción intensiva de cerdos en el mundo. Recientes publicaciones en la FAO (1989), señalan pérdidas que varían entre los US \$ 35,26 a \$ 39,78 por cerdo. Sin embargo en el Ecuador sólo han existido indicios de ella (Sotomayor, 1976).

Siendo la Seudorrabia una enfermedad creciente en importancia, es necesario conocer la situación de esta infección en el país, por consiguiente este trabajo tiene los siguientes objetivos:

-Determinar la presencia de anticuerpos contra seudorrabia en los cerdos.

-Identificar la provincia de donde proceden los cerdos que resulten positivos.

MATERIALES Y METODOS

Las muestras de suero se tomaron de 610 cerdos mayores de 6 meses de edad, faenados en las principales salas de matanza del país, en las siguientes cantidades: Riobamba 100 muestras, Quito 150, Santo Domingo 100, Machala 100 y Guayaquil 160.

El trabajo de laboratorio se efectuó en el Departamento de Virología de los Laboratorios Veterinarios del Instituto Nacional de Higiene en la ciudad de Guayaquil.

Antígeno.- El virus inactivado de Seudorrabia fue proporcionado por el gobierno de Taiwan a través, de la Misión Técnica de Agricultura. El suero control positivo provino de la misma fuente.

Sueros de campo.- Se obtuvieron de las salas de matanza, fueron centrifugados para clarificarlos y congelarlos a -20C hasta su uso.

El método serológico empleado fue la microinmunodifusión en gel descrita por Pearson y Jochim (1979).

Se utilizaron dos tipos de agar, el llamado Agar de Fijación (1g. de Agar Noble, 100 ml. de Agua destilada) y el Agar de difusión (1g. de Agar noble, 100 ml. de buffer borato pH 8,6).

El buffer borato empleado contiene: Hidróxido de sodio 2 g. Acido bórico 9 g. Agua destilada 1000 ml. se ajusta al pH a 8,6.

Montaje de placas:

- 1) Las microplacas se las limpió con alcohol y se dejó secar al ambiente.
- 2) Con un hisopo se esparció una ligera capa de Agar de fijación sobre las microplacas y se dejó secar al ambiente.
- 3) Con una pipeta estéril de 5 ml. se tomó agar difusión y se puso una capa, sobre el agar de fijación ya seco, de unos 2,8 mm. de espesor. Se dejó endurecer al ambiente. Ya endurecido se colocó en cajas de humedad, se esperó 24 horas para que se solidifique el agar.
- 4) Para cortar el agar se empleó un sacabocado, aditamento que consta de 7 orificios de 4mm. de diámetro cada uno y 2mm. de distancia entre uno y otro. Tiene un orificio situado centralmente y seis restantes en círculo alrededor de él

5) El tapón de agar cortado con el sacabocado es sacado con aguja o cánula de metal o cristal conectada a una línea de vacío. Las placas deben ser usadas el mismo día que son cortadas.

6) Llenado de los pozos e incubación.

El antígeno fue colocado en el pocillo central con un tubo capilar. Los sueros control positivo fueron colocados en los pocillos de cada lado de la prueba a ser investigada. Se colocaron también con tubos capilares.

Un total de tres muestras pueden ser investigadas en cada molde. En una placa porta-objeto entran tres moldes.

Los pocillos son llenados levemente, aproximadamente 0,02 ml. por pocillo. Los sueros a investigar se colocaron en los pocillos restantes empleando un tubo capilar para cada muestra.

Se identificó cada muestra y se la puso en la caja de humedad para la incubación a temperatura ambiente (20 - 25C), durante 24 a 72 horas.

Lectura de la prueba.- Una intensa y estrecha manga de luz dió buena iluminación. Una lupa de aumento ayudó en la lectura.

Un mínimo de 24 horas es necesario para que se realice la reacción. Si la reacción es completa después de 24 horas de incubación el resultado puede ser reportado. Se realizaron otras lecturas a las 48 y 72 horas.

La línea de precipitación que se forma entre el control positivo y el antígeno es la base para leer la prueba, si el suero control positivo no produce una línea de precipitación distinguible se debe repetir la prueba.

Reacción Negativa.- La línea de control continua hacia los pocillos de las muestras a estudiar sin recodos y lejos del suero control positivo.

Reacción Positiva.- La línea de control une y forma una línea continua con la línea que está entre el suero a probar y el antígeno.

Reacción débilmente positiva.- La línea de control se curva suavemente hacia el antígeno, lejos del suero control positivo pero no forma completamente una línea entre el antígeno y el suero a probar. Toda muestra débil positiva deberá ser repetida.

Reacción fuertemente positiva.- La línea de control gira hacia el antígeno bien dirigida, después alcanza el pocillo que contiene el suero a probar y continua en una línea ancha entre el suero test y el antígeno. Esta línea está situada muy cerca al pocillo del antígeno.

Línea no específica.- Las líneas no específicas no hacen líneas de forma continua con las líneas de control positivo.

Para el análisis estadístico se utilizó el diseño irrestrictamente al azar cuyo modelo es: $Y_{ij} = u + t_i E_{ij}$

u = Diagnóstico de Seudorrabia obtenido en la investigación.

t_i = Parámetros determinados a nivel de mataderos.

E_{ij} = Error experimental.

Los datos fueron evaluados mediante el análisis de varianza y la prueba de Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSION

En el cuadro N# 1 se observa que se ha detectado anticuerpos contra el virus de Suedorrabia en tres de las cuatro provincias.

CUADRO 1

Presencia de anticuerpos contra Seudorrabia, expresado en porcentajes.

Provincias	# muestras	Positivos	%
Chimborazo	100	0	0,0
Pichincha	250	6	2,4
El Oro	100	2	2,0
Guayas	160	2	1,25
total	610	10	1,64

tomadas para esta investigación (gráfico # 1), siendo la provincia del Pichincha la que arrojó el mayor porcentaje de positividad.

La positividad determinada a nivel del país (1,64%) es inferior a las encontradas en Venezuela en donde es de 59,3% (Rolo, Alvarez y Marín, 1987) y la de Brasil de 72,2% (Kotait, Queiroz, Bersano, Cunha, 1984).

Es importante destacar que esta determinación se hizo en animales aparentemente sanos muestreados a nivel de mataderos.

CUADRO 2

Anticuerpos contra Seudorrabia en las salas de Matanza

Salas de matanza	Muestras	Positivos	%
Riobamba (municipal)	100	0	0
Quito (municipal)	150	1	0,66
Sto. Domingo (municipal)	100	5	5
Machala (municipal)	100	2	2
Guayaquil (municipal)	80	2	2,5
(particular)	80	0	0
total	610	10	1,64

El cuadro # 2 desglosa la presencia de anticuerpos contra Seudorrabia entre los mataderos en los que se obtuvieron las muestras. Se observa que la positividad en la provincia del Pichincha está ampliamente influenciada por los casos que se presentaron en el matadero municipal de Sto. Domingo, que además es el más significativo estadísticamente. Cosa parecida ocurre en la provincia del Guayas donde los reactores positivos provinieron sólo del matadero municipal.

CONCLUSIONES.

- 1) En base a los resultados se confirma la presencia de anticuerpos contra la Seudorrabia en el país.
- 2) Estos anticuerpos están presentes en tres de cuatro provincias estudiadas, Pichincha, Guayas y el Oro.
- 3) El método de microinmunodifusión en gel agar es sensible, rápido y fácil de realizar, siendo una herramienta de laboratorio apropiada para evaluaciones serológicas.
- 4) Se advierte a los porcicultores la presencia de esta infección en el país y se recomienda ampliar estudios relacionados con este tema para conocer el impacto económico de esta enfermedad en el Ecuador.

RESUMEN

Se realizó un estudio para determinar la presencia de anticuerpos contra *Seudorrabia* en cerdos.

Se analizaron 610 sueros utilizando el método de microinmunodifusión en Agar gel descrita por Pearson y Jochim (1979). Los reactivos fueron donados por el gobierno de Taiwan a través de la Misión Técnica de Agricultura y los exámenes fueron realizados en el Departamento de Virología de los Laboratorios Veterinarios del Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical "Leopoldo Izquieta Pérez".

Las muestras fueron obtenidas en las salas de matanza de las provincias de Chimborazo, Pichincha, Guayas y El Oro, tomando sangre de animales mayores de 6 meses aparentemente sanos.

Los resultados muestran que si hay presencia de anticuerpos contra el virus de *Seudorrabia* (excepto en la provincia de Chimborazo), siendo su positividad general de 1,64%. En la provincia de Pichincha el matadero municipal de Santo Domingo alcanzó gran significancia estadística en relación a los otros sitios muestreados.

El porcentaje determinado en el presente estudio es comparativamente menor al encontrado en otros países.

SUMMARY

A study was made to determine the presence of antibodies against swine pseudorabies.

Six hundred and ten sera were analyzed by the microimmunodiffusion test described by Pearson and Jochin (1979).

Reagents were donated by the government of Taiwan through the Technical Mission of Agriculture and the tests were performed in the Virology Department of the Veterinary Laboratories of the National Institute of Hygiene "Leopoldo Izquieta Pérez". Samples were obtained from slaughter-houses of the provinces: Chimborazo, Pichincha, Guayas and El Oro, taking blood from healthy animals older than six months of age.

The results showed the presence of antibodies against the pseudorabies virus at the 1.64% of the tested samples. In the province of Pichincha the municipal slaughter-house of Santo Domingo showed a statistical difference in relation to the other places examined.

The percentage obtained in this investigation is lower than reported in other countries.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los Laboratorios Veterinarios del Instituto Nacional de Higiene, Misión China para la Agricultura del gobierno de Taiwan, así como a la Dra. Flor María Villalba por la colaboración ofrecida.

BIBLIOGRAFIA

FAO 1989. Costo de la Seudorrabia. Carta circular # 12 (mayo - agosto). Red de Cooperación Técnica entre Laboratorios de Investigación y Diagnóstico Veterinario.

Pearson, J.E. and M.M. Jochim. 1979. Protocol for the immunodiffusion test for bluetongue. Amer. Assn. Veterinary Laboratory Diagnosticians. 22nd Annual Proceed. 463-471.

Kotait, I.; J. Queiroz; J. Barsano e E. Cunha. 1984. Sorología e pesquisa de virus em amígdalas de suínos sadios de uma propriedade com foco da doença de Aujeszky em ovinos. Revista O Biológico de Governo do Estado de Sao Paulo. Vol. 50 # 7. Sao Paulo, Brasil. pp 143-147.

Rolo, M., L. Alvarez; C. Marín; H. Castaños y N. Arriojas. 1987. Evaluación serológica sobre la difusión de la enfermedad Aujeszky (Seudorrabia) en explotaciones porcinas de varias regiones de Venezuela. Boletín de la Sociedad Veterinaria Venezolana de especialistas en cerdos. Vol. II #1. Caracas, Venezuela. pp.25

Sotomayor, G. 1976. Curso de enfermedades infecciosas de los animales. Universidad de Guayaquil. pp 214-215.