

# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

---

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



“ DETECCIÓN DEL VIRUS DE AUJESZKY  
EN EYACULADO DE CERDOS ”

---

## TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

ANA LAURA CAÑEDO PARRA

DIRECTOR DE TESIS :

M. V. Z. EMILIO CAMPOS MORALES

GUADALAJARA, JAL.. NOVIEMBRE 1993

---

**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



**"DETECCION DEL VIRUS DE AUJESZKY  
EN EYACULADO DE CERDOS"**

**TESIS  
QUE PRESENTA**

**ANA LAURA CANEDO PARRA**

**DIRECTOR DE TESIS  
M.V.Z. EMILIO CAMPOS MORALES**

**GUADALAJARA, JAL. NOVIEMBRE DE 1993**

# CONTENIDO

	<b>Página</b>
RESUMEN .....	X
INTRODUCCION .....	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	5
JUSTIFICACION .....	7
HIPOTESIS .....	8
OBJETIVOS .....	9
MATERIAL Y METODOS .....	10
RESULTADOS .....	12
DISCUSION .....	19
CONCLUSIONES .....	21
BIBLIOGRAFIA .....	22

---

## RESUMEN

De acuerdo a las necesidades en la producción porcina de avance genético y con ello la importación de pié de cría, las explotaciones nacionales se encuentran en constante riesgo de contraer enfermedades económicamente graves. La enfermedad de Aujeszky es una de las más importantes, ya que causa graves problemas reproductivos e infecciosos, ocasionando así grandes fugas de capital debida a la ineficiencia en la producción.

Generalmente en las granjas afectadas no se toma en cuenta la infertilidad que la enfermedad causa en los sementales, ni el tiempo que éstos duran no solo afectados, sino eliminando el virus en forma activa una vez que los cerdos se recuperan clínicamente, en lo cual reside la importancia del presente trabajo, ya que la falta de información ha impedido que se reconozca su poder de diseminación y prevalencia, así como algunas formas de prevenir la presencia de la enfermedad en explotaciones libres de ésta.

La presente investigación está enfocada a proporcionar al medio porcícola y a la comunidad científica información técnica práctica para utilizarla al adquirir pie de cría libre de la enfermedad, complementando otras pruebas diagnósticas. Todo ésto basado en la demostración de la eliminación del virus de la Enfermedad de Aujeszky en el eyaculado del cerdo como principal objetivo.

---

El trabajo se llevó a cabo con sementales de varias granjas en la zona centro del país, todas ellas con antecedentes de Enfermedad de Aujeszky. Se tomaron muestras de sangre y semen con las que se corrieron pruebas de ELISA y de fluorescencia respectivamente. Luego se llevó a cabo cultivo celular PK15 observando efecto citopático. Los resultados obtenidos confirman la presencia del virus activo en el eyaculado del cerdo, como lo señalado por algunos autores (1,24) y en contraposición con la información nacional existente (17).

---

## INTRODUCCION

El cerdo es el animal doméstico que actualmente tiene una gran importancia, ya que es el eje central de una de las principales industrias pecuarias productoras de alimentos de origen animal con alta calidad para el consumo humano.\*

Dadas las condiciones actuales de desarrollo tecnológico en la citada industria y con el intercambio comercial de México, Estados Unidos y Canadá en cuanto a la compra de ganado porcino de abasto y pie de cría, la industria nacional se ve amenazada desde el punto de vista sanitario, ya que estos animales provenientes del exterior pueden transmitir muy diversas enfermedades de origen bacteriano, viral o parasitario. En este caso en particular se enfocará una de las enfermedades de relevancia económica y sanitaria, como lo es la Enfermedad de Aujeszky.\*

Esta enfermedad, conocida también como Pseudorrabia, Prurito loco, o Parálisis Bulbar Infecciosa, es producida por un Herpes Virus tipo I (10).

El primero en describirla fue Aladar Aujeszky en el año 1902. Fue reconocida como una enfermedad vírica del ganado vacuno, perros y gatos. (1,24). Observó que el agente causal se encontraba presente no solo en sistema nervioso central, sino también en sangre. (25).

---

\* Comunicación personal M.V.Z. Emilio Campos Morales

Schmiedhoffer en 1910 y Sangiorgi en 1914 fueron los primeros en demostrar la filtrabilidad del agente.

En 1931 Shope estableció la identificación serológica del prurito furioso en el ganado vacuno y se dió cuenta de que éste era lo mismo que la Enfermedad de Aujeszky. Desde entonces se ha presentado como un proceso nervioso agudo y fatal en varias especies domésticas y salvajes. (11, 21).

Referencias en prensa popular sugieren que la afección se presentó en los Estados Unidos desde 1813 (10, 15, 19).

En la República Mexicana el primer reporte de la enfermedad data de 1945 en el estado de Aguascalientes en bovinos. Posteriormente, en 1971 en Guerrero se detectó la enfermedad en bovinos que estuvieron en contacto con un lote de cerdos importados de Estados Unidos. Los primeros brotes en cerdos se diagnosticaron por medio de inmunofluorescencia en el estado de Michoacán durante 1969 - 1970 y después en Jalisco en 1972 - 1973. (16, 19, 22).

La incidencia de la pseudorrabia en el ganado porcino se ha incrementado mucho durante las tres últimas décadas en Estados Unidos y México. (22)

En muchos países la enfermedad es endémica y ha llegado a constituir un problema económico grave a causa de la baja productividad

---

de las cerdas, la pérdida de lechones y la disminución del rendimiento en los cerdos de engorda, así como la baja fertilidad en los sementales, ya que la calidad del semen disminuye debido a que el virus de Aujeszky altera el metabolismo y la estructura celular dando por resultado la necrosis celular. (23).

" El virus puede replicarse y multiplicarse en todo tipo de células, produciendo inflamación perivascular y necrosis de epitelios ". (10).

En los Estados Unidos se estima que en granjas con más de 5,000 cerdos, las pérdidas ascienden de 15,000 a 60,000 dólares tomando en cuenta solo la mortalidad y los abortos. (22).

El cerdo, como reservorio natural de la enfermedad elimina el virus a través del tracto nasal, por la leche, la orina (1, 3, 10, 11) y por el semen (1, 23), dando como resultado manifestaciones clínicas reproductivas, respiratorias, nerviosas y digestivas (4, 6, 24) y ocasionando además mortalidades de un 5% en pie de cría hasta un 100% en lechones (1, 4, 9, 23).

Actualmente existe una clasificación de las pruebas diagnósticas para esta enfermedad:

#### **I. Pruebas que detectan el antígeno:**

1. Inmunofluorescencia directa (IFD).
  2. Inmunofluorescencia directa en cultivo de tejidos (IFDCC).
  3. Inmunoperoxidasa Directa (ID).
-



#### 4. Pruebas biológicas (P.B.).

### **II. Pruebas que detectan anticuerpos:**

1. Enzyme-liked inmonosorbent assay (E.L.I.S.A.).
2. Seroneutralización (SN).
3. Hemoaglutinación Indirecta (IH).
4. Inmunofluorescencia Indirecta (IFI).
5. Inmunodifusión en Agar (IDA).
6. Contrainmunolectroforesis.
7. Inmunodifusión radial enzimática en agar (RIDEA).
8. Aglutinación látex (AL).
9. Fijación de complemento (FC).
10. Inhibición de hemoaglutinación (IHA).

### **III. Pruebas que detectan inmunidad celular**

1. E. L. I. S. A.
2. S. N.
3. Estimulación de linfocitos.
4. Inhibición de la migración de los leucocitos.
5. Células NK2
6. Citotoxicidad anticuerpo/dependiente
7. Células T citotóxicidad.

(4, 5, 6).

---

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En las granjas afectadas por el virus de Aujeszky , generalmente se piensa que las hembras son la causa de la baja fertilidad y no se le da la importancia debida a los sementales, pasando desapercibido que ellos son los más afectados, ya que comunmente no se revisan clínicamente durante los brotes de la enfermedad, por lo cual el principal enfoque que se debe hacer en la falla reproductiva es hacia los sementales, ya que un cerdo está programado, si es en monta directa, para que sirva a 20 hembras y si es para inseminación artificial, puede cubrir un mínimo de 60 hembras.

Cuando se realizan exámenes andrológicos a los sementales después de un brote de Aujeszky se encuentra: azoospermia, baja viabilidad, aglutinaciones, 100% de espermatozoides muertos y anormalidades en la morfología.

Esto se debe a que el virus de la Enfermedad de Aujeszky se adsorbe a la superficie celular y penetra a la célula; La envoltura viral y la cápside se desarman y en seguida el DNA viral se mueve hacia el núcleo celular. Allí ocurre la transcripción del DNA viral, seguida de las síntesis de la proteína viral y del DNA viral y finalmente se arma el virión. Estos pasan al espacio perinuclear en donde adquieren una envoltura conforme salen de la membrana nuclear. La producción de proteínas celulares se suspende en el núcleo durante este proceso y se desvía la actividad de los ribosomas en el citoplasma, se altera la

---

estructura celular y la de la membrana, hay derrame de proteínas, disminución de la síntesis de macromoléculas, hasta que ésta se detiene y da por resultado la necrosis celular. (25).

Por lo anteriormente expuesto, este trabajo está encaminado a la demostración de la presencia del virus de la Enfermedad de Aujeszky en el eyaculado de los cerdos, quienes, además de la falla reproductiva que presentan, se vuelven diseminadores potenciales de la enfermedad, ya que dependiendo de su uso en la reproducción será la cantidad de animales que puedan infectar.

Hay que recordar que si las granjas usan diferentes sementales para montar a la misa hembra, la multiplicación del problema es mayor.

---

## JUSTIFICACION

La porcicultura requiere diariamente de mejoras en la producción y esto regularmente se busca a través de los avances tecnológicos y genéticos. Es en este punto en que el virus de la Enfermedad de Aujeszky toma una importancia vital para el avance en la productividad en las empresas porcinas, ya que al requerirse nuevo material genético en estas explotaciones, normalmente se adquieren sementales nacionales o importados.

La compra de estos animales y su valor económico están dados precisamente por el soporte genético que es lo que reviste en un momento dado la importancia de la compra.

Sin embargo generalmente no hay preocupación por la calidad sanitaria que guarda este material, que como sabemos, nos puede transmitir varias enfermedades, entre ellas la de Aujeszky, en la cual los cerdos pueden ser enfermos inaparentes (portadores sanos) y pueden venir eliminando el virus hasta por un año y medio post-infección por diferentes vías y una de ellas es la genital, en la que el eyaculado puede ser el vehículo de propagación del virus y se puede considerar que la Enfermedad de Aujeszky también se adquiere por esta vía (19).

Por lo anterior, es necesario que exista apoyo teórico como material de consulta para orientar la adquisición de nuevo material genético e incluso se puede pedir que se tomen muestras del material reproductivo de los sementales para detectar la presencia del virus de Aujeszky.

---

## HIPOTESIS

Se pretende demostrar que:

*si el virus de la Enfermedad de Aujeszky se elimina por secreciones  
y el eyaculado del cerdo es una secreción,  
entonces,  
este virus se elimina en el semen y  
se transmite por vía genital a las cerdas*

---

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General:**

Demostrar que el virus de la Enfermedad de Aujeszky se elimina en el eyaculado del cerdo.

### **Objetivo Particular:**

Determinar si el virus de la Enfermedad de Aujeszky se encuentra en el líquido seminal o en los espermatozoides.

---

## MATERIAL Y METODOS

Se localizaron siete granjas con el padecimiento de la enfermedad de Aujeszky en su historial en zonas infectadas reconocidas por la S.A.R.H. y fueron muestreadas en diciembre de 1992 a mayo de 1993 de la siguiente forma:

GRANJA	LOCALIZACION	FECHA DE BROTE
1	Acatic, Jal.	Agosto 1992.
2	Zapopan, Jal	Enero 1992.
3	Tepatitlán, Jal.	Agosto 1992.
4	Tepatitlán, Jal.	Octubre 1992.
5	Ixtlahuacán de los Membrillos, Jal.	Abril 1990.
6	Zapotlanejo, Jal.	Abril 1990.
7	Tepatitlán, Jal.	Marzo 1990.

Las granjas aplican vacuna contra E.A. con virus vivo modificado (delección G1 -).

Se recolectó eyaculado de 100 sementales, así mismo se muestrearon serológicamente y se corrieron pruebas de especificidad de anticuerpo vacunal o de campo. Esto se realiza mediante pruebas de

---

ELISA en microplato (17). Tanto el muestreo de semen como el de sangre se realizaron una sola vez en cada animal.

El eyaculado se trabajó con una prueba de fluorescencia (3,8,11) específica para detectar la presencia del virus de Aujeszky.

De las muestras positivas se separó mediante centrifugación el líquido seminal de los espermatozoides usando una centrífuga refrigerada a una velocidad de 18,000 r.p.m.

Se procedió a separar el sobrenadante. El paquete celular se destruyó con ultrasonido y se realizó nuevamente la prueba de inmunofluorescencia tanto para el paquete celular destruido como para el líquido seminal por separado para determinar la presencia del virus.

Dependiendo de donde se encontrara el virus se procedió a realizar una prueba biológica para determinar la actividad del virus usando cultivo celular PK15. (8,11).

Se realizó un análisis estadístico de asociación de variables llamado Correlación Simple

---



## RESULTADOS

Los resultados obtenidos confirman la presencia del virus en el líquido seminal del cerdo tal y como se observa en la gráfica 1, en la cual se señala la cantidad de sementales que eliminaron el virus de la Enfermedad de Aujeszky en forma activa:

En la granja número 1 ubicada en Acatic, Jal. se muestrearon 24 sementales, de los cuales 6 fueron positivos a la prueba de inmunofluorescencia en semen, lo que es igual a un 26%.

En la granja número 2, localizada en el municipio de Zapopan, Jal. se tomó muestra de semen a 3 sementales, de los cuales 1 resultó positivo a la prueba de I.F. representando un 33% de ellos.

En la granja número 3, que se encuentra en Tepatitlán, Jal., se colectaron 18 muestras de semen, las cuales fueron negativas a la prueba de I.F.

De la granja número 4, que también está ubicada en Tepatitlán, Jal., se tomó muestra de semen a 6 sementales, de los que 3 tuvieron resultados positivos a la prueba de I.F., es decir, el 50%.

En la granja número 5 se tomó muestra de semen a 12 sementales, de los cuales 3 reportaron resultado positivo a la prueba de I.F. representando esto un 26%.

---

De la granja número 6 se obtuvieron 17 muestras de semen, de las cuales 4 obtuvieron resultado positivo a la prueba de I.F., es decir, el 23%.

En la granja número 7 se trabajaron 20 sementales, de los cuales, dos muestras de semen resultaron positivas a la prueba de I.F., lo que es igual a un 10% de los animales muestreados.

En la gráfica número 2 se observa el porcentaje de sementales reactores positivos a la prueba de I.F. en cada una de las granjas.

En la gráfica número 3 se manifiesta el porcentaje total de reactores positivos a la prueba de I. F. en semen.

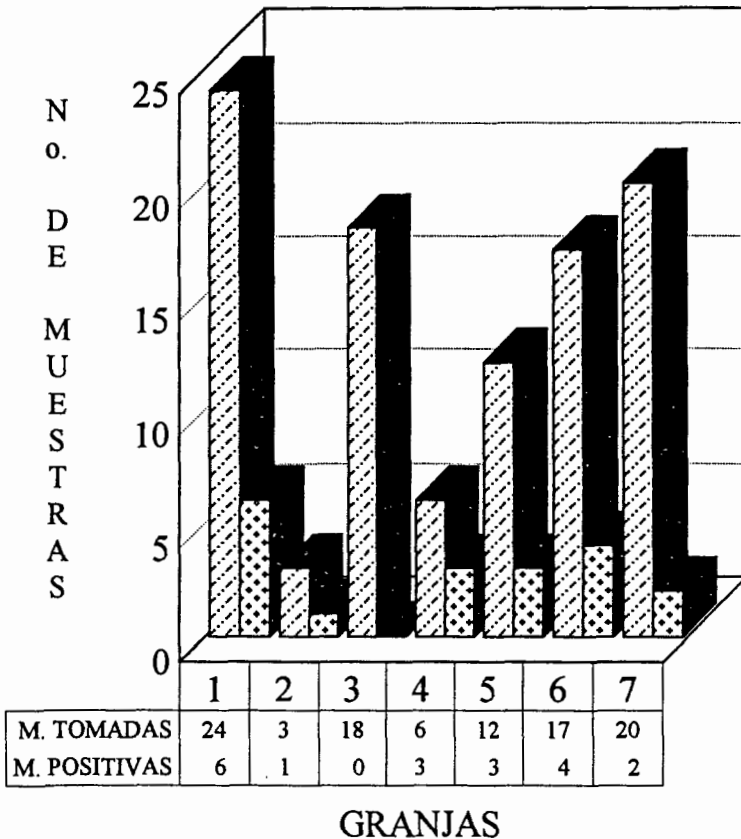
Serológicamente, en cada una de las granjas, los sementales positivos a la prueba de I.F. en semen, muestran que tienen una reacción inmunológica vacunal, dando bajos títulos de anticuerpos.(1:4, 1:8, 1:16) contra virus de campo de la Enfermedad de Auszesky, lo cual se observa fácilmente en la gráfica número 4.

Los sementales que reportaron título de anticuerpos de 1:32 en la prueba de ELISA en suero sanguíneo, resultaron negativos a la prueba de I.F. en semen.

Todas las muestras de semen positivas a V.E.A. en la prueba de inmunofluorescencia provocaron un efecto citopático en cultivo celular PK15.

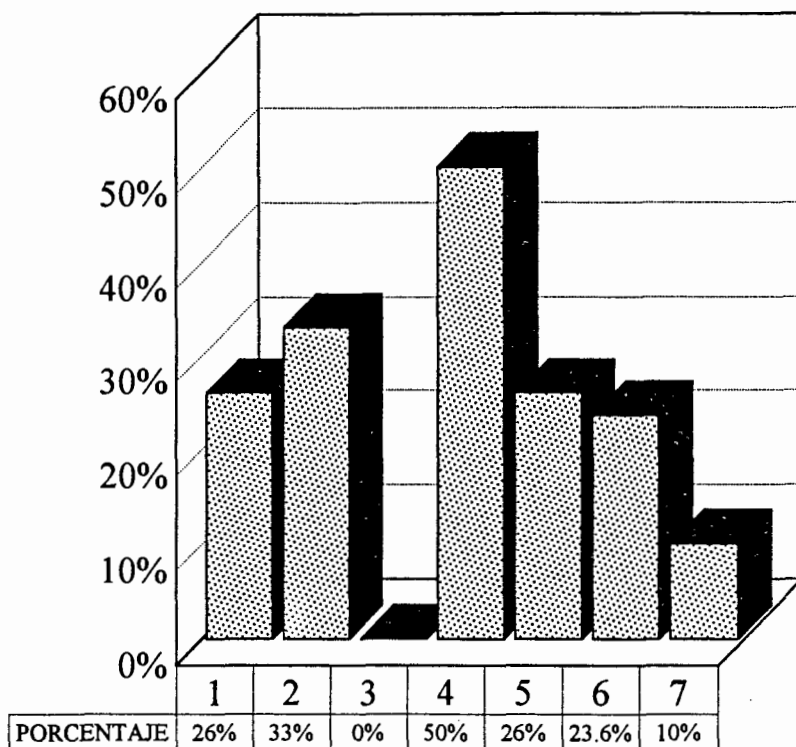
---

## RELACION DE REACTORES POSITIVOS A LA PRUEBA DE I.F. EN SEMEN PARA DETECCION DE V. E. A.



GRAFICA 1

**PORCENTAJE DE REACTORES POSITIVO A  
LA PRUEBA DE I.F. EN SEMEN PARA  
DETECCION DE V.E.A. EN CADA GRANJA**

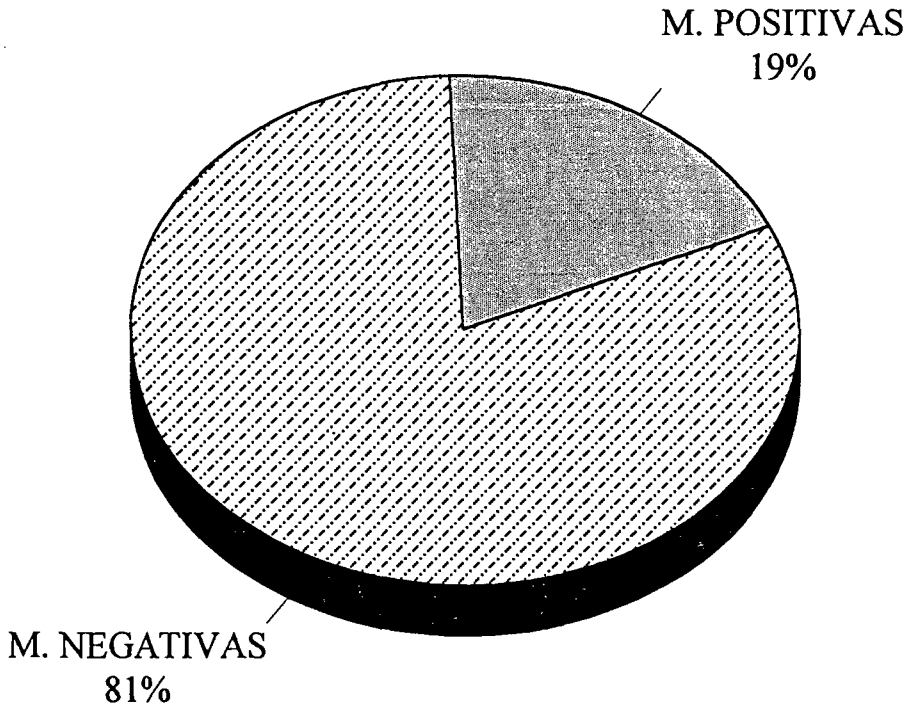


GRANJAS

■ PORCENTAJE

GRAFICA 2

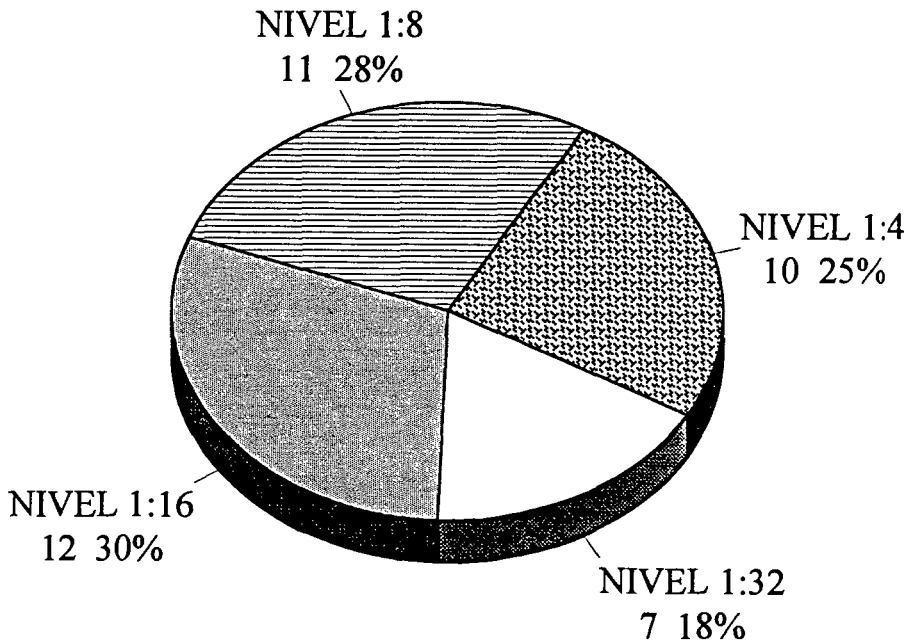
**PORCENTAJE TOTAL DE REACTORES POSITIVOS  
A LA PRUEBA DE INMUNOFLUORESCENCIA EN  
SEMEN PARA DETECCION DE V.E.A.**



**RELACION DE MUESTREO**

**GRAFICA 3**

## RESULTADO DE LA PRUEBA DE ELISA EN SUERO SANGUINEO PARA DETECCION DE V.E.A.



GRAFICA 4

**RESULTADOS DE LA PRUEBA DE ELISA EN SUERO  
SANGUINEO DE LOS SEMENTALES POSITIVOS A LA  
PRUEBA DE I.F. EN SEMEN**

No. DE GRANJA	ELISA Ac. V.E.A.	I.F. SEMEN V. E. A.
1	1: 16	+
1	1: 8	+
1	1: 4	+
1	1: 4	+
1	1: 8	+
1	1: 16	+
2	1: 8	+
4	1: 16	+
4	1: 4	+
4	1: 8	+
5	1: 8	+
5	1: 4	+
5	1: 16	+
6	1: 4	+
6	1: 16	+
6	1: 8	+
6	1: 8	+
7	1: 4	+
7	1: 4	+

## DISCUSION

El comportamiento inmunológico de los sementales es el adecuado, dado que hay presencia de anticuerpos específicos a V.E.A. y clínicamente los animales están sanos, aunque esto no impide que el virus se elimine en forma activa.

Puede observarse claramente que en la granja número 3 no se obtuvieron resultados positivos a la prueba de I.F. en semen, lo cual puede atribuirse a que en este lugar, el estrés que pueden llegar a sufrir los sementales es mínimo, ya que estos se encuentran bajo excelentes condiciones de manejo. Pero es probable que si esto llegara a alterarse, los sementales comenzarían a eliminar el virus.

En el resto de las granjas, las condiciones ambientales y de manejo para los sementales van de regulares a pésimas, lo cual favorece situaciones de nerviosismo para los animales y así mismo a que el virus se elimine constantemente.

Es importante señalar la importancia de las pruebas de ELISA y del cultivo celular de PK15, ya que gracias a ambos se puede asegurar que lo que se aisló a partir del semen es el virus de la E.A.

Por lo tanto, a partir de los resultados obtenidos, y en contraposición a la información nacional existente (16), se confirma que el virus de la enfermedad de Aujeszky no solo está presente en el semen, sino que además es capaz de permanecer y ser eliminado en forma activa

---



por esta vía después de 32 meses en en animales que han sobrevivido a un brote.

La vía genital, económicamente hablando, puede ser la más costosa, ya que un solo semental, en términos zootécnicos, podría tener el poder de infección de un mínimo de 20 hembras que a su vez infectan a otros verracos y el potencial de eliminación del virus se multiplica.

El virus se encuentra en el semen preparado para la inseminación artificial, por lo cual este material es potencialmente activo para la transmisión de la enfermedad.

La enfermedad de Aujeszky, dado su comportamiento epizootológico, muestra que es impredecible su difusión por la forma de eliminación de los virus; aunado esto a lo complejo de los cuadros clínicos que se confunden con otras enfermedades bacterianas y virales. Por lo cual los sementales deben ser evaluados y muestreados antes de su adquisición y una vez en la granja, realizar este trabajo por lo menos una vez al mes para, en caso necesario, inmediatamente establecer las medidas de control y mantenimiento de productividad para reducir al mínimo el impacto económico.

Se deben adquirir sementales de granjas no infectadas con el virus de la Enfermedad de Aujeszky.

---

## CONCLUSIONES

1.- El eyaculado es una fuente de eliminación del virus hasta en un 50% en animales que han sido infectados durante un brote de Aujeszky.

2.- El virus se encuentra en el líquido seminal y no en el espermatozoide.

---

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Anchor. Boehringer Ingelheim. Boletín técnico México I.V.P.S. 12 HT. Julio 1992.
  - 2.- Correa. G.P. Enfermedades Virales de los Animales Domésticos. Vol. 1. Editorial F.H. México 1982. pp. 43-47
  - 3.- Davis B.D./R. Dulbecco. Tratado de Microbiología. Editorial Salvat. México 1971. pp. 1355.
  - 4.- Fuentes. R.A. Manual de Medicina Preventiva en Cerdos. Tesis U.N.A.M. Julio 1990. pp. 16-19
  - 5.- Fuentes M. Pruebas de Laboratorio para el Diagnóstico de la Enfermedad de Aujeszky. Porcira. 2:2. Sept. 1992.
  - 6.- Fuentes, R.M./Pijoan, A.C. Clínica Porcina 87/88 U.N.A.M. México, 1988. pp. 52-57.
  - 7.- García, R.O./Lobo, M.G. Enfermedades de los Cerdos, Editorial Trillas, México 1989, pp. 69-73
  - 8.- Grace C. Rovozzo/Carroll N. Burke. A Manual of Basic Virological Techniques. Englewood Cliffs, N.J. 1973. pp. 122-125.
-

- 9.- Hall, F.W. Prevalence of Pseudorabies Virus Infection and Associated Infections in six large swine herds in Illinois Jor. Am. Vet. Med. Assoc. 198:11, Junio 1991.
  - 10.- Intervet International B.V. Nobivac Aujeszky, boletín Técnico, México, 1992.
  - 11.- Kluge, J.P./G.W. Beran/H. T. Hil/K B. Platt. in Leman, A. D. Disease of Swine, Iowa State University Press 1992. pp. 312-322.
  - 12.- Martínez, M.A. Vacunación Contra la Pseudorrabia, Avances en Medicina Veterinaria. Año. 3; 4:1, 1988.
  - 13.- Martínez, M.A. Enfermedad de Aujeszky, Diagnóstico y Erradicación: Avances en Medicina Veterinaria. Año. 3, 4:2, 1988.
  - 14.- Morrison, B. R. Factors Associated with the Seroprevalence of Pseudorabies Virus in Breeding Swine from Quarantined, Jor. Am. Vet. Med. Assoc. 199:5 Sept. 1991.
  - 15.- Neunfort R./Heinric S. Enfermedades del Cerdo, Editorial Acribia. Zaragoza 1974, pp. 627-634.
  - 16.- Norden Laboratories. Pseudorabies Virus gpl Antibody Test Kit. ClinEase PRV.-V. U.S. Veterinary License No. 189 U.S.A. 1992.
-

- 17.- S A R H. Programa de Acreditación de Médicos Veterinarios Zootecnistas. C N M Z M. 1993. pp. 78.
  - 18.- Ramírez, N.R./Pijoan, C.A. Diagnóstico de la Enfermedades del Cerdo, 1982. pp. 419 - 426.
  - 19.- Ramírez, R.N./Pijoan, C.A. Enfermedades de los Cerdos, México 1986. pp. 137-150.
  - 20.- Reyes C.P. Bio Estadística Aplicada. Editorial Trillas 1987 pp. 163.
  - 21.- Rodríguez, C.C. Financial Analysis of Psudorabies Control And Eradication Swine: Jor. Am. Vet. Med. Assoc. 197:10 November 1991.
  - 22.- Santillán, S.S. Síntesis Porcina, 4:11, Noviembre, 1989. Enfermedades del Cerdo, Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V. 1989 pp. 54-59
  - 23.- Taylor, D.J. Pig Diseases, The Burlington Press, Foxton, Cambridge 1986. pp. 41-46.
  - 24.- Taylor, D.J. Atlas de Patología Porcina, Editorial Interamericana, McGraw-Hill, España, 1990.
-