

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**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**

MELISSA MONZÓN REINHARD

Médica Veterinaria

GUATEMALA, SEPTIEMBRE DE 2016

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**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**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

MELISSA MONZÓN REINHARD

Al conferírsele el título profesional de

MÉDICA VETERINARIA

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, SEPTIEMBRE DE 2016

**UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
JUNTA DIRECTIVA**

DECANO: M.Sc. Carlos Enrique Saavedra Vélez
SECRETARIA: M.V. Blanca Josefina Zelaya Pineda
VOCAL I: M.Sc. Juan José Prem González
VOCAL II: Lic. Zoot. Edgar Amílcar García Pimentel
VOCAL III: M.V. Carlos Alberto Sánchez Flamenco
VOCAL V: Br. Javier Augusto Castro Vásquez

ASESORES

M.V. EDGAR LEONEL BAILEY LEONARDO

M.V. ALEJANDRO JOSÉ HUN MARTÍNEZ

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

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

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título de:

MÉDICA VETERINARIA

ACTO QUE DEDICO

A DIOS:

Por iluminar mi vida y darme la bendición de haber culminado esta etapa tan importante. Por ser el centro, mi fuerza y guía en cada paso.

A MIS PADRES:

Eduardo Alejandro Monzón Cervantes y Melinee Reinhard Barranco por su incansable apoyo, dedicación y amor incondicional.

A MI LEO DE KVOTHE:

Por ser mi ejemplo a seguir, por su dedicación y cariño incondicional. Gracias por ser parte de este sueño y ayudarme a cumplirlo.

A MI ABUELITA:

Letty Barranco, por ser tan importante en mi vida y siempre darme su apoyo y amor incondicional.

A MI FAMILIA:

Sobrinas Kristen Monzón. A mi hermano Juan Pablo Monzón, tíos, y demás familia.

A MIS AMIGOS:

Magaly Barrera, Roxana Navas, Carmen Solares, Beatriz Marinelli, Joselyn Argueta, Gracias por tanto cariño y creer en mí. Rebeca Velásquez, Ilse Barreda, Jessica López, Silvana Ibarra, Teresa Caballeros,

Mario Castaneda, Herlindo Sol, Roberto Izaguirre por ser parte de esta gran etapa, y por los momentos vividos en esta casa de estudios.

A MI PERRITAS:

Dusschy Alejandra y Lola; Por ocupar una gran parte de mi corazón, por pasar noches de estudios conmigo y demostrarme el amor más puro y sincero.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS:

Por darme mil bendiciones en mi vida y darme la oportunidad de estudiar y poder alcanzar esta meta tan importante, y tu amor infinito.

A MI PADRE:

Por apoyarme en esta etapa tan importante y siempre enseñarme a ser perseverante y luchar por mis sueños. Gracias por ser parte de esta meta.

A MI MADRE:

Por su cariño y motivación en esta etapa de mi vida, por creer en mí y ser parte de esta meta.

A MI ABUELITA:

Por su gran amor, por siempre estar pendiente de mí, por tus buenos deseos y siempre ser mi apoyo incondicional.

A MI LEO KVOTHE:

Por tu gran cariño, dedicación y apoyo. Por querer siempre ayudarme a cumplir mis sueños, por ser mi novio y mi mejor amigo. Gracias por darme la oportunidad de ser tu aprendiz.

A MIS ASESORES:

Por su apoyo, dedicación y tiempo durante todo mi proyecto de investigación.

A MIS MAESTROS:

Por impartir sus conocimientos y enseñanzas durante toda la carrera. Por ser parte de este sueño y permitirme llegar hasta aquí.

A MIS AMIGOS:

Muchas gracias por su amistad y por todos los momentos alegres e inolvidables que compartimos, por las noches largas de estudios, las risas, las veces que nos sacaron de clases, por los días grises y por las aventuras vividas. ¡Gracias por todo!

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	OBJETIVOS	2
	2.1 Objetivo General.....	2
	2.2 Objetivo Específico.....	2
III.	REVISIÓN DE LITERATURA	3
	3.1 Peste porcina clásica.....	3
	3.1.1 La peste porcina clásica en Guatemala.....	3
	3.1.2 Distribución geográfica mundial.....	5
	3.1.3 Transmisión.....	6
	3.1.4 Signos.....	7
	3.1.4.1 Forma aguda.....	7
	3.1.4.2 Forma crónica.....	8
	3.1.4.3 Forma congénita.....	8
	3.1.5 Morbilidad y mortalidad.....	8
	3.1.6 Diagnóstico.....	9
	3.1.6.1 Identificación del agente.....	9
	3.1.6.2 Método de ELISA captura de antígeno.....	9
	3.1.6.3 Método de ELISA captura de anticuerpo.....	10
	3.1.6.4 Método reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR).....	10
	3.1.6.5 Diagnóstico utilizado por los servicios veterina- rios en Guatemala.....	12
	3.2 Sistema de vigilancia epidemiológica de PPC para Guatemala.....	12
	3.2.1 Vigilancia activa.....	14
	3.2.2 Vigilancia pasiva.....	15
	3.2.3 Fórmula de "Cannon y Roe".....	16
	3.2.4 Muestreos de tejidos.....	17

3.3	Investigación documental.....	19
3.3.1	Las características de la investigación documental se definen por.....	19
3.3.2	Censo demográfico.....	20
3.3.2.1	Usos.....	20
3.3.2.2	Importancia de conocer el censo porcino en Guatemala.....	20
3.4	Declaración de país libre de PPC.....	21
3.4.1	Definición de brote.....	21
3.4.2	Sistema de atención de denuncias.....	21
3.4.3	Laboratorio.....	21
3.5	Programa regional de erradicación de fiebre porcina (PREFIP).....	22
3.5.1	Los formularios diseñados, son los siguientes.....	24
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
4.1	Materiales.....	26
4.1.1	Área de estudio.....	26
4.1.2	Recursos humanos.....	26
4.1.3	Recursos de campo.....	26
4.1.4	Recurso biológico.....	27
4.1.5	Recursos de laboratorio.....	27
4.1.6	Centros de referencia.....	27
4.2	Metodología.....	28
4.2.1	Procesos de diagnóstico de laboratorio.....	28
4.2.2	Técnica de la prueba de reacción de la cadena de la polimerasa (PCR).....	29
4.2.2.1	Criterios de inclusión.....	29
4.2.3	Cálculo de muestra a nivel nacional.....	30
4.2.3.1	Criterios establecidos para cálculo de muestra de cada área.....	30
4.2.3.1.1	Área peri focal.....	31

	4.2.3.1.2	Área central.....	32
	4.2.3.1.3	Diseño de muestreo estratificado para granjas.....	33
V.		RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
	5.1	Cálculo de prevalencia.....	36
	5.2	Discusión.....	36
VI.		CONCLUSIONES.....	38
VII.		RECOMENDACIONES.....	39
VIII.		RESUMEN.....	40
		SUMMARY.....	42
IX.		REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro No. 1	
Impacto Económico de PPC para Guatemala 2011- 2014.....	5
Cuadro No. 2	
Tipo de muestras para vigilancia de PPC, su manejo y transporte Guatemala 2014.....	18
Cuadro No. 3	
Número de explotaciones a muestrear en Área periférica.....	32
Cuadro No. 4	
Número de explotaciones a muestrear en Área central.....	33
Cuadro No. 5	
Estratos basados en número de hembras en las explotaciones.....	34
Cuadro No. 6	
Muestras calculadas y resultados negativos en el Área central y periférica.....	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No. 1

Distribución mundial de la Peste Porcina Clásica, segundo semestre

Año 2014.....6

I. INTRODUCCIÓN

La Peste Porcina Clásica (PPC), es una enfermedad viral contagiosa de los cerdos, la cual figura en la lista del Código Sanitario para los Animales Terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE).

Actualmente la PPC es endémica en Guatemala, la cual se diagnosticó en los años 50 y desde ese entonces se ha tratado de controlar y erradicar. En el año 2009 se logró declarar libre de la enfermedad, estatus que se perdió en el año 2010 con un brote diagnosticado en el departamento de Escuintla.

Lamentablemente en 2011 se reportó nuevamente un brote, en Sacatepéquez donde se sacrificaron más de 17,000 animales y se reportaron casos secundarios en todo el país.

La importancia del estatus sanitario en Guatemala es que es una enfermedad endémica, la cual restringe el comercio internacional y causa un impacto económico significativo a la producción del país, por lo que erradicarla abriría nuevamente las fronteras comerciales y se contribuye a la seguridad alimentaria del país.

En el presente trabajo tiene como objetivo determinar la presencia o ausencia de la enfermedad para contribuir a determinar el estatus sanitario del virus de la Peste Porcina Clásica.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

- Contribuir a determinar el estatus sanitario de Peste Porcina Clásica (PPC) en Guatemala.

2.2 Objetivo Específico

- Demostrar la ausencia o presencia de circulación viral de Peste Porcina Clásica mediante la técnica de Reacción de la Cadena de la Polimerasa (PCR), en la población de cerdos de Guatemala.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Peste porcina clásica

La Peste Porcina Clásica (PPC) se produce por un virus del gen Pestivirus de la familia Flaviviridae. Este virus está estrechamente relacionado con los pestivirus de los rumiantes que provocan diarrea viral bovina y enfermedad de las fronteras. (Spickler, 2015)

El virus puede sobrevivir durante meses en el cerdo y subproductos del mismo a temperaturas bajas y durante años si la carne está congelada por lo cual pueden transmitir la enfermedad. (Codigo Terrestre, 2015)

El período de incubación puede extenderse 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 piara, por 2 a 4 semanas, o más. (Spickler, 2015)

La PPC se encuentra en Centroamérica y Sudamérica, Europa, Asia y partes de África. Actualmente están libres de la enfermedad Norteamérica, Australia y Nueva Zelanda. En la década de los noventa aparecieron focos importantes en los países bajos, Alemania, Bélgica e Italia. (Codigo Terrestre, 2015)

La enfermedad se ha propagado mediante el transporte legal e ilegal de animales y por la alimentación contaminada de los cerdos que contienen tejidos infectados. (Codigo Terrestre, 2015)

3.1.1 La peste porcina clásica en Guatemala

En Guatemala no existen registros que permitan conocer con precisión el

año en que ingresó la enfermedad al país, pero se cree que hizo su aparición en la década de los años 50, cuando los animales fueron vacunados con virus vivo, combinado con la aplicación de suero hiperinmune. En el año de 1977 se reportó la muerte de 30 mil cerdos, por lo que autoridades del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA) inició una campaña de vacunación en distintas zonas del país. (Noriega, 2015)

La peste porcina clásica (PPC), como se mencionó anteriormente, ha producido enormes pérdidas a la industria porcina y al comercio de productos porcinos en el país, con montos que sobrepasan los US\$ 10 millones de dólares americanos, posterior al re aparecimiento de esta enfermedad, ocurrida en noviembre de 2009. (Bailey, 2013)

El brote de noviembre 2011 obligó a que la vigilancia epidemiológica se intensificara, que se cerrara el comercio de estos productos a países de la región, que aumentara la necesidad de contratación de mayor cantidad de personal de campo (técnicos vacunadores y médicos veterinarios para el programa de PPC), la adquisición de equipo de campo y oficina, biológico para su prevención, material para toma y envío de muestras, vehículos y combustible, inversión en equipo de laboratorio así como kits y reactivos para pruebas diagnósticas. (Orellana, 2012)

Las pérdidas económicas e inversión estimada desde 2011 a la fecha se detallan en el siguiente cuadro:

Cuadro No. 1 Impacto Económico de PPC para Guatemala 2011 – 2014

Descripción	Costo Estimado
Atención denuncias 2012 a primer semestre 2014	Q145,720.00
Valor animales sacrificados	Q31,790,000.00
Inversión OIRSA	Q23,000,000.00
Inversión directa del sector productivo (APOGUA)	Q.3,400,000.00
Inversión Gobierno de Guatemala	Q10,641,000.00
Vacuna donada por USDA/APHIS	Q3,1200,000.00
Total	Q721096,720.00

Fuente: informes programa PPC, MAGA; OIRSA. 2011-2014

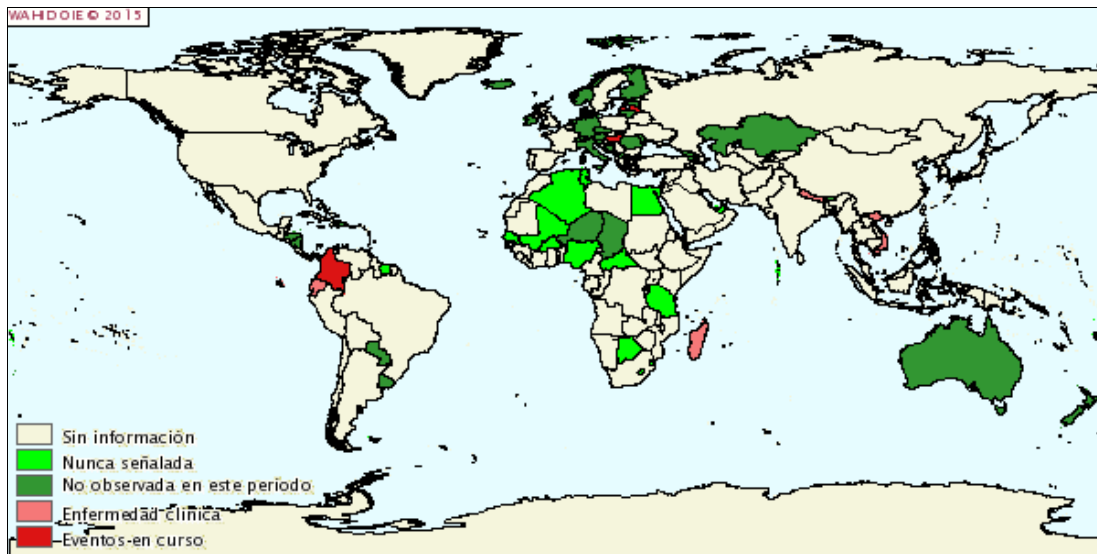
Debido a la suma importancia del impacto económico y financiero, el MAGA, los productores de cerdos organizados en Asociación de porcicultores de Guatemala (APOGUA) y el sector industrial fortalecieron el sistema de vigilancia epidemiológica para que la detección, investigación y diagnóstico de enfermedades de los animales de la especie porcina, sean realizadas de forma temprana y oportuna, lo cual permita su control inmediato y/o erradicación, evitando de esa forma que se ponga en riesgo la situación sanitaria de Centroamérica y que el gobierno u organismos internacionales de apoyo técnico y financiero se vean en la necesidad de invertir nuevamente, más recursos, que pudiesen destinarse al fortalecimiento de los servicios veterinarios en general, para la prevención de enfermedades exóticas y el control y erradicación de otras enfermedades que afectan la producción porcina, con el fin de abrir nuevamente fronteras comerciales y mejorar la seguridad alimentaria del país. (Orellana, 2012)

3.1.2 Distribución geográfica mundial

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)

Figura No. 1 Distribución Mundial de la Peste Porcina Clásica, datos segundo semestre año 2014



Fuente: Spickler, 2015

3.1.3 Transmisión

La forma de transmisión entre animales más importante es a través del contacto directo o indirecto, principalmente por la vía oro nasal (secreciones, excreciones, semen y sangre). (Codigo Terrestre, 2015)

También se puede diseminar el virus por medio de personal de granjas vecinas, veterinarios, y comerciantes de cerdos. El contacto indirecto puede ser a través de instalaciones, implementos, ropa, instrumentos, vehículos, agujas, diseminación por medio de desperdicios de alimento que se les proporciona a los cerdos y la infección tras placentaria donde los lechones toman papel de

portadores asintomáticos o con anomalías congénitas. (Codigo Terrestre, 2015)

El efecto de vecindad es de suma importancia ya que durante brotes donde la densidad de cerdos es alta, el aire puede ser medio de diseminación (hasta 1 kilometro). (Codigo Terrestre, 2015)

3.1.4 Signos

Los signos clínicos de la PPC varían según la cepa del virus, la edad y susceptibilidad de los cerdos. Las cepas más virulentas provocan enfermedades agudas; las cepas menos virulentas pueden provocar un alto porcentaje de infecciones crónicas, leves o asintomáticas. Aunque las cepas de mayor virulencia alguna vez fueron las más comunes, la mayoría de las epizootias de ahora son causadas por cepas de moderada virulencia. Los animales mayores son menos propensos a mostrar síntomas graves, que los cerdos jóvenes. También se han informado algunas diferencias específicas de la raza. (Codigo Terrestre, 2015)

3.1.4.1 Forma aguda

La forma clínica aguda se caracteriza por morbilidad alta (100%) y muerte de los animales entre 10 a 20 días después de la infección. Los animales afectados presentan fiebre (41°C), apatía o baja actividad, anorexia, letargo, ganglios linfáticos inflamados, ataxia, paresia y en ocasiones convulsiones. Se observan lesiones hemorrágicas en piel desde la primera fase de la enfermedad que afecta sobre todo orejas, hocico, abdomen y cara interna de las extremidades. Existe conjuntivitis, con marcada descarga ocular, descarga nasal, estreñimiento que evoluciona a diarrea gris amarillento y puede haber emesis ocasionalmente. Pueden presentarse problemas respiratorios como lo es la disnea y la tos. (Codigo Terrestre, 2015)

3.1.4.2 Forma crónica

La forma clínica crónica se caracteriza por ser una enfermedad letal donde los animales sobreviven más allá de los 30 días después de la infección. Generalmente el curso es muy lento, incluyendo infecciones secundarias bacterianas, por lo que el cuadro clínico se vuelve confuso. Esta forma se presenta por periodos prolongados e intermitentes presentando fiebre (41°C) y viremia. Además se puede presentar apetito irregular, retraso en el crecimiento, tos, diarrea y emaciación. (Codigo Terrestre, 2015)

3.1.4.3 Forma congénita

El virus de la Peste porcina clásica puede atravesar fácilmente la placenta, siendo esta infección en hembras gestantes con cepas de moderada o baja virulencia o virus de cepas vacunales atenuados que pueden dar lugar a distintas anomalías fetales y neonatales que dependerán del momento de la gestación en el que se produce la infección. Las principales alteraciones que se pueden producir en esta forma son: abortos, momificaciones, reabsorción fetal, muerte fetal, lechones nacidos débiles, temblor congénito, muerte perinatal, mioclonia congénita, nacidos clínicamente normales, persistentemente viremicos sin respuesta de anticuerpos. (Codigo Terrestre, 2015)

3.1.5 Morbilidad y mortalidad

La gravedad de la enfermedad varía con la cepa viral, mientras algunas cepas provocan enfermedad grave con altos índices de mortalidad, otras pueden ocasionar enfermedad leve o incluso asintomática. Los índices de morbilidad y mortalidad son altos durante las infecciones agudas, y la letalidad puede acercarse al 100%. Se presentan más bajas en la enfermedad subaguda. Las infecciones crónicas siempre son mortales, pero pueden afectar a algunos animales de la

piara. La edad y el estado inmunitario de los animales también afectan el curso de la enfermedad, con índices más bajos de mortalidad en los cerdos adultos que en los animales jóvenes. (Spickler, 2015)

3.1.6 Diagnostico

Debe sospecharse la presencia de PPC en cerdos con signos de septicemia y fiebre alta, en particular si fueron alimentados con restos de comida cruda o si se incorporaron animales nuevos a la piara. También debe considerarse esta enfermedad en piaras con otros signos, incluso piaras reproductoras con bajo rendimiento reproductivo y la presencia de la enfermedad en los lechones. Es posible que sea difícil diferenciar la PPC de otras enfermedades sin análisis de laboratorios. (Spickler, 2015)

3.1.6.1 Identificación del agente

La identificación del Agente, se realiza mediante la técnica de reacción de la cadena de polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR) o en tiempo real de RT-PCR, aislamiento viral en cultivo celular, con la detección de virus por inmunofluorescencia o inmunoperoxidasa, mediante confirmación de la identificación con anticuerpos monoclonales y la prueba de inmunofluorescencia en secciones de criostato de órganos de cerdos afectados. (Codigo Terrestre, 2015)

3.1.6.2 Método de ELISA captura de antígeno

Para un diagnóstico rápido de PPC en cerdos vivos. La desventaja es que es menos sensible que el aislamiento del virus, sobre todo en cerdos adultos y en casos leves o subclínicos, puede compensarse analizando todos los cerdos de la piara sospechosa con pirexia o signos clínicos de la enfermedad. La prueba no es

apropiada para el diagnóstico de la PPC en un solo animal, sino que solo debe utilizarse a nivel de piara. (Codigo Terrestre, 2015)

3.1.6.3 Método de ELISA captura de anticuerpo

Los anticuerpos policlonales para pruebas de competición o de bloqueo deben obtenerse de cerdos o conejos infectados por una de las cepas recomendadas de VPPC (virus de peste porcina clásica) o por la cepa C adaptada a conejo. (Codigo Terrestre, 2015)

La sensibilidad de la prueba ELISA debe ser lo bastante alta como para considerar positivo cualquier suero de animales convalecientes, es decir, que reaccione en la prueba de neutralización al menos 21 días después de la inoculación. (Codigo Terrestre, 2015)

3.1.6.4 Método reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR)

Debido a su rapidez y sensibilidad, la RT-PCR es adecuada para el cribado y la confirmación de casos sospechosos de enfermedad, y está aceptada por varios países y por la Unión Europea (UE). Sin embargo, debe tenerse en cuenta que pueden producirse falsos positivos debidos a una contaminación del laboratorio, así como falsos negativos, debidos a posibles inhibidores en la muestra. Así, pues, cualquier resultado positivo en un brote primario debe confirmarse siempre con otras pruebas. Es obligatorio incluir un número suficiente de controles positivos y negativos en cada ejecución de la prueba; también es recomendable que se incluyan controles internos. Esta prueba se puede aplicar a muestras de sangre o de suero, así como a órganos sólidos y a sobrenadantes de cultivo celular; ha sido utilizada con éxito en casos de brotes. (Codigo Terrestre, 2015)

En la actualidad el PCR en tiempo real es la técnica más sensible para la detección de ácidos nucleicos (ADN y ARN), combina la amplificación y detección en un mismo paso al correlacionar el producto de la PCR de cada uno de los ciclos con una señal de intensidad de fluorescencia. (Aguilera, 2011)

Para la amplificación por PCR en tiempo real además de los reactivos que se emplean en la PCR punto final, es necesario emplear un fluoróforo. En algunos ensayos cuantitativos se requiere determinar el número de moléculas ARNm, por lo que es necesario llevar a cabo una reacción de transcripción reversa (RT) del ARNm a ADNc antes de que se aplique la PCR en tiempo real. En este caso, el ensayo se conoce como retrotranscripción o RT acoplada a la PCR (RT-PCR), la que puede realizarse en uno o dos pasos. Finalmente, se realiza la amplificación (síntesis) del ADN, ARN o ADNc en un termociclador acoplado a un sistema óptico, que monitorea la señal de los fluoróforos usados para detectar el producto amplificado. Debido a que la fluorescencia de éstos aumenta conforme el producto se amplifica, se combinan los procesos de amplificación y detección en una sola etapa. (Aguilera, 2011)

Los fluoróforos utilizados para seguir la amplificación del ADN durante la PCR en tiempo real pueden ser de dos tipos: a) fluoróforos con afinidad por el ADN y b) sondas específicas para fragmentos del ADN, es decir, que sólo emiten fluorescencia cuando se ha amplificado un fragmento del ADN de interés (blanco). (Aguilera, 2011)

Las muestras ideales para PPC deben ser donde se aloja el virus, que en este caso son las tonsilas palatinas. Debido a la alta sensibilidad (99%) y especificidad (95%) de la prueba.

3.1.6.5 Diagnóstico utilizado por los servicios veterinarios en Guatemala

Los servicios veterinarios oficiales de Guatemala, cuentan con la siguiente cadena diagnóstica:

- Diagnóstico de campo
 - Animales que presentan signología clínica compatible a PPC
 - Debido a la etapa que se encuentra el país, los servicios veterinarios oficiales determinaron investigar todo problema notificado en la porcicultura (Codigo Terrestre, 2015)
- Diagnostico tamiz
 - Pruebas Serológicas
 - Elisa captura de anticuerpo
 - Elisa captura de antígeno
- Pruebas de biología molecular
 - PCR
- Pruebas en laboratorios de referencia
 - PCR
 - Seroneutralización
 - RT-PCR
 - Aislamiento Viral (Codigo Terrestre, 2015)

3.2 Sistema de vigilancia epidemiológica de peste porcina clásica para Guatemala

La vigilancia epidemiológica para la PPC estuvo a cargo del Programa de Control y Erradicación de la Peste Porcina Clásica hasta Mayo del 2015, y posteriormente por el Programa Nacional Porcino -PRONASPORC- mediante el acuerdo ministerial (350-2015) a partir de (05/06/2015) de la Dirección de Sanidad

Animal, del Viceministerio de Sanidad Agropecuaria y Regulaciones (VISAR) del MAGA. Las autoridades responsables del Programa de Sanidad Porcina del VISAR tienen como función principal controlar y erradicar esta enfermedad. (Noriega, 2015)

Para ello se estableció un programa de vacunación a nivel nacional para impedir la diseminación de la PPC. Además, se controla a través de registros el movimiento de porcinos vivos, productos y subproductos, reforzando la vigilancia epidemiológica en todo el país y efectuando auditorías oficiales en las granjas tecnificadas y semi tecnificadas ubicadas en las diferentes áreas de producción. El sistema de vigilancia se estableció con el propósito de estar atentos a la notificación por parte de los responsables del sector, porcicultores, y cualquier persona que comunique los casos de cuadros clínicos de esta enfermedad o enfermedades compatibles, que presentan signos parecidos a la PPC, para que sean investigados oficialmente, con el fin de que se apliquen las medidas de control zoonosanitarias, además de establecer en forma oportuna el diagnóstico que permita descartar la PPC, que se puede confundir, tanto clínica como patológicamente con diversas enfermedades de cuadros respiratorios, entéricos y cutáneos presentes en nuestro medio. (Noriega, 2015)

Con la finalización de la inmunización fue imperativo incrementar las actividades de vigilancia epidemiológica de casos de enfermedades porcinas compatibles con peste porcina clásica por las siguientes razones:

- Demostrar que no existe infección ni circulación del virus de PPC, en la población porcina del país.
- Ingreso ilegal de productos de origen porcino de países donde existe la enfermedad o enfermedades compatibles, incrementa el riesgo de introducción del virus

- Probabilidad de ingreso de nuevas enfermedades compatibles con PPC como la peste porcina africana y diarrea epidémica porcina, que impacten negativamente en la producción porcina. (Orellana, 2012)

En las investigaciones de las sospechas de enfermedades compatibles con PPC todos los médicos veterinarios, en toda categoría de explotación: familiar, semi tecnificadas y tecnificadas consideran los criterios y uso de formularios siguientes:

- Que los cerdos manifiesten signos clínicos compatibles con PPC
- Que en la explotación existan más de dos animales enfermos.
- Que actualicen la información catastral PREFIP 18.
- Que se utilicen los formatos de investigación inicial de enfermedad, cierre del evento, declaración y levantamiento de cuarentena utilizando los formatos PREFIP 20, 21, 23, 22 en forma cronológica. (Orellana, 2012)

3.2.1 Vigilancia activa

Los epidemiólogos realizan la vigilancia activa en las explotaciones de mayor riesgo, aquellas en las que ingresan cerdos de diferentes municipios y departamentos, que posteriormente salen a mercados o municipios diferentes, producto de la comercialización, después de permanecer por varios días o semanas en la explotación. (Orellana, 2012)

Es recomendable que las explotaciones del país con mayor movimiento de entrada y salida de animales sean visitadas cada 30 días o cuando la (el) propietaria(o) notifique la presencia de animales con signos clínicos compatibles con PPC. (Orellana, 2012)

3.2.2 Vigilancia pasiva

Involucra la selección y capacitación de sensores de campo (colaboradores comunitarios) para que se incremente el número de notificaciones. (Orellana, 2012)

Tanto en la vigilancia activa como pasiva se considera que las notificaciones y hallazgos de animales con cuadros clínicos de cualquier naturaleza, en los cerdos, son documentados y reportados con la finalidad de demostrar las actividades que se realizan a nivel de campo. Las muestras son tomadas en aquellos casos en los que se observan signos clínicos compatibles con PPC. (Orellana, 2012)

Tomando en consideración la población porcina por departamento catastrada durante las actividades de inmunización de los años 2012-2014, los eventos con manifestaciones clínicas compatibles con PPC (problemas respiratorios, signos nerviosos, cuadros diarreicos), que se presenten son atendidos por epidemiólogos departamentales, con el apoyo de los sensores que se identifiquen en las comunidades: maestros de escuelas y miembros de las Comisiones Coordinadoras de Desarrollo Local (COCODE) y vendedores de las distribuidoras agropecuarias. (Orellana, 2012)

Los cuadros clínicos compatibles con PPC son notificados a la Coordinación de Epidemiología del MAGA para su investigación, con la participación del médico veterinario privado de la explotación, en el caso de granjas comerciales. La razón de lo anterior se basa en que las notificaciones que resultan positivas, deben tener un seguimiento y deben ser reportadas a la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), hasta el cierre del evento. (Orellana, 2012)

El MAGA acredita a médicos veterinarios privados para ejecutar las activida-

des de investigación, seguimiento y cierre de brotes de enfermedades compatibles con PPC si desarrolla el instrumento legal para su ejecución; en este caso los veterinarios oficializados deben cumplir con las directrices que se establezcan. (Orellana, 2012)

3.2.3 Fórmula de “Cannon y Roe”

Fórmula utilizada para detectar la presencia o ausencia de una enfermedad, creada por Cannon y Roe en el 2001.

$$n = \frac{(1 - (1 - \alpha)^{1/D}) (N - \frac{1}{2} (SeD - 1))}{Se}$$

Donde:

α : es el nivel de significancia

D: es prevalencia esperada

N: es el tamaño de la población

Se: es el nivel de sensibilidad

Los muestreos inmunológicos y serológicos se realizan en base a la fórmula de “Canon and Roe” en base a una prevalencia estimada de 1%, ya que la PPC en Guatemala, demuestra en estudios anteriores que la prevalencia estimada de anticuerpos es menor al 10% (2%), por lo que este estudio pretende demostrar la ausencia o presencia del virus de PPC que fue afinada al 1%, con el fin de tomar la mayor parte de la población del país. Las prevalencias fueron establecidas en base al comportamiento de la enfermedad en el territorio nacional, en base a los brotes del año 2,012 y la cobertura esperada del muestreo. (Espinoza, 2014)

3.2.4 Muestreos de tejidos

Esta actividad se desarrolla para la búsqueda del virus ante la posibilidad de que existan “portadores sanos”. Se utilizan preferiblemente cerdas de descarte y lechones retrasados, y el resto animales en crecimiento de mataderos, rastros y casas de habitación. El objetivo del muestreo de tejidos es monitorear la enfermedad una vez que los anticuerpos vacúnales desaparezcan. (Espinoza, 2014)

El personal profesional y técnico, participantes en los muestreos de tejidos reciben capacitación para la correcta obtención de la tonsila palatina, su conservación y envío al laboratorio, así como, la adecuada captura de información utilizando la boleta PREFIP 17C la cual que debe acompañar a las mismas, considerando los siguientes profesionales:

- Médicos Veterinarios oficiales del programa de PPC del MAGA.
- Estudiantes de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, que realicen su Ejercicio Profesional Supervisado (EPS) en mataderos y rastros porcinos del país.
- Médicos Veterinarios Epidemiólogos departamentales del MAGA, en sacrificios en comunidades seleccionadas.
- Médicos veterinarios privados autorizados, en granjas del sector tecnificado. (Espinoza, 2014)

La prueba de laboratorio a la que son sometidas las muestras colectadas es la de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y en caso de obtener un resultado positivo debe procederse de inmediato a realizar las acciones de:

- Envío de una parte de la muestra al laboratorio Regional de Referencia de PPC ubicado en Managua, Nicaragua.

- Almacenar el resto de la muestra (contra muestra) debidamente identificada a temperatura de – 70°C, por si existe la necesidad de enviar la muestra a un laboratorio de referencia internacional de la OIE (Ames, Iowa, USA). (Espinoza, 2014)

Cuadro No. 2 Tipo de muestras para vigilancia de PPC su manejo y transporte. Guatemala 2,014

Tipo de muestra	Tiempo de transporte y almacenamiento	Condición del animal al momento de toma de la muestra	Transporte de la muestra
Suero	Refrigerado a 4°C máximo 8 horas. Si no se envía inmediatamente puede almacenarse congelado a -20°C.	En fase febril (Condición obligatoria, deberá tomarse la temperatura en el momento de toma de la muestra). Si no hay fiebre, no deben tomarse muestras. Cuatro semanas post vacunación.	Menos de 8 horas de transporte con refrigerante.
Sangre con EDTA	Refrigerada a 4°C (dura un máximo de 2 días, deberá llegar al laboratorio antes de 8 horas para realizar las pruebas correspondientes)		Menos de 8 horas de transporte con refrigerante.
**Tejidos (tonsila palatina)	Tejido fresco en refrigeración. Si no es posible llevarla el mismo día debe congelarse a -20°C.		Enviarla congelada en menos de 8 horas después de que fue tomada.

Fuente: Plan de Erradicación de PPC Guatemala, 2014

3.3 Investigación documental

La investigación documental como parte esencial de un proceso de investigación científica, puede definirse como una estrategia en la que se observa y reflexiona sistemáticamente sobre realidades teóricas y empíricas usando para ello diferentes tipos de documentos donde se indaga, interpreta, presenta datos e información sobre un tema determinado de cualquier ciencia, utilizando para ello, métodos e instrumentos que tiene como finalidad obtener resultados que pueden ser base para el desarrollo de la creación científica. (Codigo Terrestre, 2015)

3.3.1 Las características de la investigación documental se definen por

- La recolección, selección, análisis y presentación de información coherente a partir del uso de documentos.
- La realización de una recopilación adecuada de datos e información que permiten redescubrir hechos, sugerir problemas, orientar hacia otras fuentes de investigación, orientar formas para elaborar instrumentos de investigación, elaborar hipótesis, etc.
- Considerarse como parte fundamental de un proceso de investigación científica, mucho más amplio y acabado.
- Realizase en forma ordenada y con objetivos precisos, con la finalidad de ser base para la construcción de conocimientos.
- El uso de diferentes técnicas e instrumentos para la localización y clasificación de datos, análisis de documentos y de contenido. (Martinez, 2002)

3.3.2 Censo demográfico

3.3.2.1 Usos

Casi invariablemente implica una enumeración completa de todas las áreas en el país, esto proporciona una oportunidad única para:

- La adquisición de la información sobre la agricultura urbana, en particular cuando el censo agrícola es limitado al área rural;
- La adquisición de la información de productores agropecuarios que residen en el área urbana, pero manejan la tierra en el área rural;
- Recabar información de pequeñas explotaciones y huertos caseros que normalmente permanecen fuera del alcance de un censo agrícola. (Martinez, 2002)

3.3.2.2 Importancia de conocer el censo porcino de Guatemala

La información generada a través del censo sirve de base para la planificación de actividades generales en los planes de gobierno entre los que incluye: conocer la existencia animal y producción pecuaria, así como la tecnología usada por los productores en general. Por otro lado, sirve como punto de referencia para evaluar la eficacia de las políticas de gobierno y los programas de desarrollo, ayuda a los gobiernos a diagnosticar las limitaciones que existen en el sector pecuario, los resultados ayudan a analizar la pobreza y permite generar políticas de seguridad alimentaria, posibilita enfocar mejor las políticas incluso a nivel de pequeñas comunidades, la información ayuda al sector privado a tomar mejores decisiones comerciales, en el tema de sanidad animal permite la planificación de las estrategias correspondientes en actividades como vacunaciones, muestreos y extensión, así como para medición de impactos económicos ante problemas sanitarios. (INE, 2014)

3.4 Declaración de país libre de PPC

3.4.1 Definición de brote

Según la OIE un brote designa la presencia de uno o más casos de enfermedad en una unidad epidemiológica. (Bailey, 2013)

3.4.2 Sistema de atención de denuncias

Se recopila la información empleando la boleta digital de atención de denuncias creada por el Programa de Control y Erradicación de Peste Porcina Clásica, mediante la cual se establece la cronología del evento y las variables epidemiológicas para el respectivo análisis, indicando los tipos de muestras recolectadas y las pruebas diagnósticas a realizar, con la finalidad de establecer en un solo formato la cronología completa del evento, desde el inicio de los casos hasta el cierre del evento. (Bailey, 2013)

Dicha boleta digital alimenta la información necesaria para generar las Boletas del Programa Regional de Erradicación de Fiebre Porcina –PREFIP- del OIRSA estandarizadas en toda la región del OIRSA para el catastro, atención de denuncias y establecimiento de cuarentenas. (Bailey, 2013)

3.4.3 Laboratorio

Debido a que el país se encuentra en fase de erradicación de la Peste Porcina Clásica, se debe descartar antes que nada dicha enfermedad, por lo tanto se corren 8 diagnósticos diferenciales a la Peste Porcina, siendo estos:

- Salmonella.
- E. coli.

- Gastroenteritis Transmisibile.
- Enfermedad de Aujeszky.
- Síndrome Reproductivo Respiratorio (PRRS)
- Erisipela.
- Actinobacilus.
- Peste Porcina Africana. (Bailey, 2013)

Dichas pruebas son realizadas utilizando sueros enviados al Laboratorio Nacional de Sanidad Animal.

3.5 Programa regional de erradicación de fiebre porcina (PREFIP)

El Manual de Procedimientos para el Control y Erradicación de Peste Porcina Clásica, fue publicado el 30 de marzo de 2005, en San Salvador, El Salvador. Su elaboración, se hizo en base al “Reglamento para el control y la erradicación de la peste porcina clásica”, propuesto por el OIRSA a los países miembros. (PREFIP-OIRSA, 2005)

En el manual se consideran cuatro fases para alcanzar la eliminación del agente de esta enfermedad:

- Fase preparatoria, etapa en que se establecen las herramientas jurídicas y legales que respalden las acciones administrativas así como el diseño de un programa de educación sanitaria; levantamiento de información de base con caracterización de la población porcina, de acuerdo a los tipos de explotaciones existentes.
- Fase de control, considera la aplicación del biológico seleccionado para inmunizar la población en riesgo para disminuir la probabilidad de sobrevivencia del agente, con una cobertura mínima del 80% de la

población, por un período de dos años o más dependiendo del grado de cobertura. (PREFIP-OIRSA, 2005)

- Fase de vigilancia y erradicación, mediante vigilancia activa, con la realización de muestreos serológicos y de tejidos de cerdos de diferentes períodos de producción (lechones, crecimiento-desarrollo, reproductores), en búsqueda del agente; intensificación de la vigilancia pasiva con la participación de productores y colaboradores para atender casos de enfermedades compatibles con PPC. (PREFIP-OIRSA, 2005)
- Fase de declaratoria de país libre, en la que se ejecuta el análisis de riesgo correspondiente, se recopila y depura la información de las actividades de cada fase para la elaboración del documento que respalde, con pruebas técnicas, que el virus de la enfermedad no se encuentra en el país. (PREFIP-OIRSA, 2005)

El Manual fue adoptado por decisión de los países donde la Peste Porcina Clásica era endémica, se consideró la necesidad de contar con un instrumento técnico-administrativo, que permitiera a los funcionarios y empleados de salud animal de estos países, facilitar la ejecución de acciones de campo en cada una de las etapas correspondientes para el proceso de eliminación de la enfermedad. Por medio de la creación de un plan de trabajo que al ser aprobado, desataría el inicio de las actividades de campo para la educación sanitaria del país, orientadas a concientizar a los pequeños productores sobre la importancia de controlar y erradicar la enfermedad. (PREFIP-OIRSA, 2005)

El programa cuenta con un sistema de información (plataforma informática electrónica), con el propósito de facilitar el ordenamiento de la información generada en campo, apoyar acciones de caracterización, vacunación, vigilancia epidemiológica y diagnóstico de laboratorio. Para cumplir su propósito este

sistema cuenta con 27 formularios, respaldos con una base de datos computarizada ubicada en “en línea”, a la cual todos los países pueden acceder, por medio de un identificador y clave de acceso. (PREFIP-OIRSA, 2005)

3.5.1 Los formularios diseñados, son los siguientes

1. Registro de Médicos Veterinarios Oficiales y Privados
2. Registro de Colaboradores del Programa
3. Registro de Comerciantes de Cerdos
4. Registro de Transportistas de Cerdos
5. Registro de Centros de Acopio de Animales y Tiangues
6. Registro de Laboratorios de Diagnóstico Veterinario
7. Registro de Distribuidoras y Farmacias Veterinarias
8. Registro de Fábricas de Alimentos Concentrados para Animales
9. Registro de Mataderos de Cerdos
10. Registro de Sacrificio de Cerdos en casas de habitación
11. Registro de Embutidoras y Procesadoras
12. Informe diario de actividades de campo en comunicación y educación sanitaria
13. Informe Semanal de Actividades Movilización de Cerdos
14. Seguimiento de Pruebas de Laboratorio
15. Seguimiento de Granjas Tecnificadas y Semitecnificadas
16. Seguimiento de Granjas Centinelas
17. Ausencia de enfermedad (Muestreo)
18. Catastro Porcino
19. Registro de Vacunación Diaria
20. Investigación de Foco de Enfermedad Aguda en Cerdos
21. Toma y Envío de Muestras
22. Cierre de Episodio de Enfermedad Aguda en Cerdos
23. Notificación de Cuarentena por Brote de Cólera Porcino

24. Notificación de Finalización de Cuarentena
25. Acta de Tasación para Sacrificio de Cerdos
26. Acta de Aceptación de Sacrificio
27. Control de Movilización de Cerdos. (PREFIP-OIRSA, 2005)

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materiales

4.1.1 Área de estudio

El estudio se realizó en el Área central donde se encuentra mayor riesgo (Guatemala, Chimaltenango, Sacatepéquez), y el Área periférica donde se encuentra menor riesgo.

4.1.2 Recursos humanos

- Estudiante encargada de la investigación
- Profesionales que conforman el grupo de asesores
- Técnicos y profesionales que conforman PRONASPORC
- Personal del laboratorio regional de referencia de salud animal (LARRSA)

4.1.3 Recursos de campo

- Vehículo de transporte
- Combustible
- Hielera
- Bolsas “ziplock”
- Guantes de latex
- Gel refrigerante
- Masking tape
- Marcador
- Tijeras
- Pinzas de disección
- Cuchillo de carnicero

- Overol
- Botas
- Cuaderno de apuntes
- Boleta PREFIP 17C
- Lapiceros

4.1.4 Recurso biológico

- Los parámetros para ser tomada como muestras de los tejidos de tonsilas palatinas de cerdos muertos, de los diferentes establecimientos, tomando en cuenta lugares de faenado (rastros y domicilios) y granjas.
- Hembras de descarte, lechones retrasados en el crecimiento y el resto de animales en crecimiento.

4.1.5 Recursos de laboratorio

- Kits de PCR

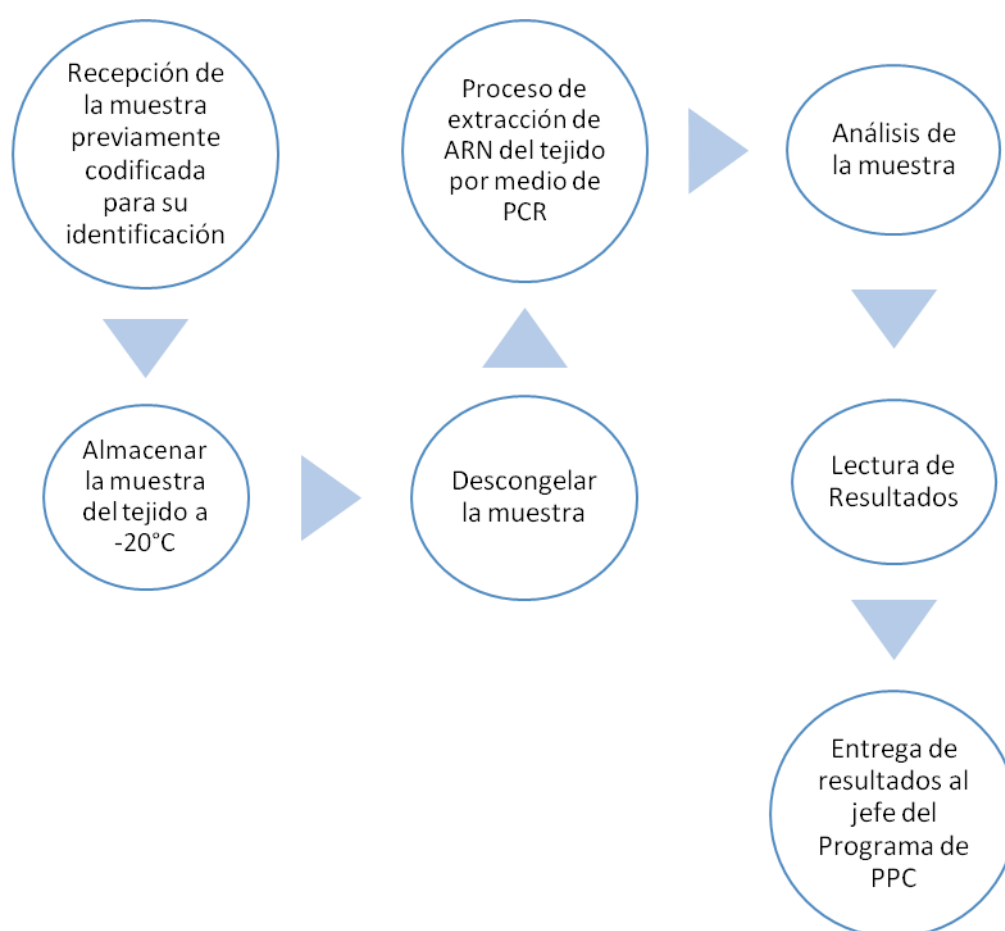
4.1.6 Centros de Referencia

- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos
- Docentes y bibliotecas
- Internet

4.2 Metodología

4.2.1 Procesos de diagnóstico de Laboratorio

Las muestras luego de haber sido colectadas en el campo se llevaron al laboratorio de referencia regional de sanidad animal LARRSA y se siguió el siguiente protocolo:



Los resultados positivos, se repitieron con el tejido restante. Y se realizó una investigación activa en la zona donde se detectó el tejido positivo incluyendo

granjas y traspatios. Se comunicó de inmediato a la jefatura del programa para que coordinaran las acciones.

4.2.2 Técnica de la prueba de reacción de la cadena de la polimerasa (PCR)

En la PCR a tiempo real, los procesos de amplificación y detección se produjeron de manera simultánea en el mismo vial cerrado, sin necesidad de ninguna acción posterior. Además, mediante detección por fluorescencia se pudo medir durante la amplificación la cantidad de ARN del virus sintetizado en cada momento, ya que la emisión de fluorescencia producida en la reacción fue proporcional a la cantidad de ARN formado. Esto permitió conocer y registrar en todo momento la cinética de la reacción de amplificación.

Los termocicladores para llevar a cabo la PCR a tiempo real incorporaron un lector de fluorescencia y fueron diseñados para poder medir, en cualquier momento, la fluorescencia emitida en cada uno de los viales donde se realizó la amplificación. Los sistemas de detección por fluorescencia empleados en la PCR a tiempo real pueden ser de dos tipos: agentes intercalantes y sondas específicas marcadas con fluorocromos.

Se utilizaron 10 miligramos de tejido (tonsila palatina) utilizando un equipo llamado “MagNA Pure” el cual tuvo como función la extracción del ARN del virus de peste porcina clásica si hubiera llegado a presenciarse en algún tejido. Se utilizaron placas donde se procesaron 96 muestras, agregándole un diluyente. Las muestras se prepararon con una mezcla de reactivos y así también pasaron por un termociclador durante una hora.

Los tejidos que reaccionaron a la presencia de ARN, este equipo por ser tecnológico y rápido, en la pantalla fue dando los resultados en el momento y exacto lo cual pudo llegar a detectar positivos en tiempo real, causando fluorescencia de-

bido a que dentro de los reactivos va una sonda que contiene fluorocromos, lo cual tiñe el ARN del virus.

4.2.2.1 Criterios de inclusión

Para este estudio se definió que sería principalmente en hembras de descarte debido a que han finalizado su periodo productivo, lechones rezagados debido a que la enfermedad de PPC es una enfermedad que puede afectar el desarrollo de los fetos en formación y animales en crecimiento en menor proporción.

4.2.3 Cálculo de muestra a nivel nacional

Para esta actividad, se definió que el 70% de las muestras serán tomadas en el área central (Guatemala, Sacatepéquez y Chimaltenango) debido a que se ha determinado que son los departamentos de mayor riesgo y el 30% en el resto del país (área periférica).

Se utilizó la población de rastros (sacrificios en casas de habitación) registrados en el PREFIP, luego se determinó la cantidad de rastros por departamento y su porcentaje en relación a su área (central y periférica). Luego se utilizó el programa estadístico “Win epi scope” para realizar el cálculo de muestreo. Posteriormente se dividió el resultado obtenido del programa estadístico, en el porcentaje correspondiente de los rastros de los departamentos de cada una de las áreas.

4.2.3.1 Criterios establecidos para el cálculo de muestra para cada área

Para fines del presente estudio se plantearon los siguientes criterios para el cálculo de muestra y fueron aplicados en el programa “Win Epi scope”.

La prevalencia estimada se basa en que este sea menor al 10%, por lo que para al área central se tomara el 1%, área periférica 2% y granjas al 5% dependiendo del riesgo de cada área.

4.2.3.1.1 Área peri focal

- Población 1085 sacrificios en casas de habitación
- Prevalencia estimada 2%
- Error esperado 1.5%
- Intervalo de confianza 95%
- **RESULTADO.** 261 sacrificios en casas de habitación a muestrear
- Número de muestras a obtener 1,305

Cuadro No. 3 Número de explotaciones a muestrear en el área Periférica

Departamento	Numero de Rastros	% de Rastros	Numero de Rastros a muestrear
Alta Verapaz	84	8	20
Baja Verapaz	68	6	16
Chiquimula	49	5	12
El Progreso	56	6	13
Huehuetenango	54	5	13
Escuintla	17	2	4
Izabal	29	3	7
Jalapa	18	2	4
*Jutiapa	69	6	17
Quetzaltenango	75	6	18
Quiche	135	12	32
Retalhuleu	24	2	6
San Marcos	88	8	21
Santa Rosa	103	9	25
Sololá	38	3	10
*Suchitepéquez	68	6	16
Totonicapán	49	5	12
Zacapa	61	6	15
TOTAL	1085	100	261

Fuente: Elaboración propia

4.2.3.1.2 Área central

- Población 386 sacrificios en casas de habitación
- Prevalencia estimada 1%
- Error esperado 0.8%

- Intervalo de confianza 95%
- **RESULTADO.** 235 sacrificios en casas de habitación a muestrear
- Número de muestras a obtener 1,175

Cuadro No. 4 Número de explotaciones a muestrear en el área central

Departamento	Numero de Rastros	% de Rastros	Numero de Rastros a muestrear
Chimaltenango	201	52	122
Guatemala	158	41	96
Sacatepéquez	27	7	16
Total	386	100	235

Fuente: Elaboración propia

4.2.3.1.3 Diseño de muestreo estratificado para granjas

Para el cálculo del muestreo de granjas, primero se definieron categorías para el cálculo de muestra basado en el número de hembras de las explotaciones. Explotaciones sin hembras se utilizó la población normal para la categorización y se definieron los siguientes criterios:

- Prevalencia estimada 5%
- Error esperado 4.99
- Intervalo de confianza 95%

Cuadro No. 5 Estratos basados en número de hembras en las explotaciones

<20 hembras	No se incluyen y deberá intensificarse la vigilancia epidemiológica para detección de casos
51 a 100 hembras	38 muestras de tejidos por granja
102 a 200 hembras	52 muestras de tejidos por granja
201 a 500 hembras	57 muestras de tejidos
501 a 1,000 hembras	72 muestras de tejidos
> 1,000 cerdas	86 muestras de tejidos

Fuente: Elaboración propia

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuadro No. 6 Muestras calculadas y resultados negativos en el Área central y periférica

Departamento	Muestra Calculada	Resultado Negativo	Resultado Positivo
Alta Verapaz	33	39	0
Baja Verapaz	19	43	0
Chiquimula	21	40	0
El Progreso	4	62	0
Huehuetenango	23	53	0
Escuintla	21	188	0
Izabal	10	22	0
Jalapa	8	27	0
*Jutiapa	23	47	0
Quetzaltenango	24	35	0
Quiche	41	149	0
Retalhuleu	11	57	0
San Marcos	53	73	0
Santa Rosa	32	72	0
Sololá	16	16	0
*Suchitepéquez	27	86	0
Totonicapán	12	58	0
Zacapa	20	98	0
Guatemala	480	381	1
Chimaltenango	610	689	0
Sacatepéquez	80	112	1
TOTAL	1,568	2,347	2

Fuente: Elaboración propia

5.1 Calculo de prevalencia

$$\text{PREVALENCIA} = \frac{\text{No. de casos Positivos}}{\text{Población total del estudio}} \times 100$$

Muestras de tejidos positivos 0/ 2349 (población total) * 100 = **0%**

5.2 Discusión

De este estudio de 2,349 muestras se obtuvieron dos animales positivos, a estos 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 determinó que la prevalencia estimada de la enfermedad de PPC en el país, es de 0%. La prueba de PCR en tiempo real tiene un 95% de sensibilidad y 95% de especificidad, así que la posibilidad de un falso positivo o negativo puede llegar hasta un 5%. Sumado a esto se realizó una investigación activa en el área donde se recolectaron los tejidos “positivos” tomando en cuenta todas las unidades de producción porcina para descartar la posibilidad de circulación viral.

La prueba de PCR en tiempo real es altamente específica y sensible, pero siempre se encuentra un margen de error de 5%, por lo que la prueba puede existir la posibilidad de falsos positivos.

Todas aquellas muestras que no cumplieron con los criterios de inclusión, identificación y técnicas de toma y envío de muestras fueron desechadas siendo estos más de mil tejidos en este estudio.

VI. CONCLUSIONES

- Se determinó que la prevalencia estimada en Guatemala de Peste Porcina Clásica fue de 0%.
- Se demostró la ausencia de circulación viral de Peste Porcina Clásica mediante la prueba de reacción de la cadena de la polimerasa (PCR).

VII. RECOMENDACIONES

- Continuar con la vigilancia epidemiológica, muestreos serológicos y tejidos de animales sospechosos a enfermedades compatibles con PPC de manera permanente.
- Estimular a los productores a notificar casos, así como prestar atención a denuncias de casos de enfermedades compatibles con la enfermedad de manera permanente.
- Continuar con las actividades de educación sanitaria y divulgación a los productores y a la comunidad en general para con los servicios veterinarios, contribuyendo a la vigilancia pasiva.
- Realizar análisis de riesgo internos y externos para el apareamiento nuevamente del virus de peste porcina clásica en Guatemala.
- Que este estudio, se utilice como complemento de los resultados serológicos de muestreos nacionales realizados en 2013, 2014, 2015 y 2016 y la ausencia de brotes desde 2012.
- Realizar énfasis de vigilancia epidemiológica en las áreas donde aparecieron los falsos positivos.

VIII. RESUMEN

La Peste Porcina Clásica (PPC), es una enfermedad viral contagiosa de los cerdos, la cual figura en la lista del Código Sanitario para los Animales Terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE).

Guatemala actualmente es endémica a la PPC, la enfermedad se diagnosticó en los años 50 y desde ese entonces se ha tratado de controlar y erradicar.

En el presente estudio se diseñó un cálculo de muestra utilizando la fórmula de “Canon and Roe” para determinar el estatus sanitario del virus de la Peste Porcina Clásica –PPC- en Guatemala, principalmente dirigido a hembras de descarte y lechones rezagados. Y así mismo aportar los resultados al programa nacional de sanidad porcina (PRONASPORC) para poder continuar con la ruta de erradicación de la enfermedad y poder declarar al país libre.

La técnica de PCR se utilizó en este estudio ya que es altamente sensible y específica, no requiere de manipulación post PCR, teniendo un 95% de sensibilidad y especificidad donde en este estudio se identificaron dos falsos positivos de 2,349 tejidos procesados dando una prevalencia estimada de 0%.

Se realizó una investigación activa en el área donde se recolectaron los tejidos “positivos” tomando en cuenta todas las unidades de producción porcina para descartar la posibilidad de circulación viral.

Todas aquellas muestras que no cumplieron con los criterios de inclusión, identificación y técnicas de toma y envío de muestras fueron desechadas siendo estos más de mil tejidos.

Determinando que el estatus sanitario en Guatemala de Peste Porcina Clá-

sica fue negativo principalmente en hembras de descarte, lechones retrasados en el crecimiento y animales en crecimiento en 496 mataderos de todo el país.

SUMMARY

Classical Swine Fever is a contagious viral disease of the pigs, which is listed in the health code for terrestrial animals of the World Organization for animal health (OIE).

Guatemala is actually endemic of Classical Swine Fever, it was diagnosed in the 50s, since then they tried to control and eradicate this disease.

The study was a sample calculation using the formula Canon and Roe to determinate the health status of Classical Swine Fever virus in Guatemala, mainly directed to discard females and delayed piglets. And provide the results to the National Swine Health Program (PRONASPORC) to continue the route of eradication of the disease and to declare the country free of the virus.

The PCR technique was used in this study, since it is highly sensitive and specific, requires no post PCR manipulation, having a 95% sensitivity and specificity, in this study where two false positives of 2,349 processed palatine tonsils giving a 0% of prevalence estimated.

An active research was conducted in the area where false positives were collected taking into consideration all swine production units to rule out the possibility of viral circulation.

All those samples that did not meet the inclusion criteria, identification and techniques of taking and sending samples were discarded being more than a thousand.

Determining the health status in Guatemala of Classical Swine Fever was

negative mainly in discard females, delayed piglets and growing animals in 496 traces across the country.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aguilera, P. (2011). *PCR en tiempo real*. Recuperado de <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/710/pcrtiempo.pdf>
2. Bailey, E. (2013). *La Peste Porcina Clásica Como Enfermedad Reemergente en la Región en 2011 y su Contención en 2012*. Guatemala: MAGA
3. 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
4. Espinoza, L. (2014). *Plan de Erradicación de la Peste Porcina en Guatemala, años 2014-2015*. Guatemala: OIRSA
5. INE. (Instituto nacional de Estadística.GT)(2014). *Términos de Referencia: Consultoría para la planificación del Censo Agropecuario*. Recuperado de <http://www.ine.gob.gt/archivos/TerminosdeReferenciaCensoAgropecuario.pdf>
6. MAGA.(Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación.GT) (2012). *La Peste Porcina Clásica en Guatemala*. Guatemala: MAGA
7. Martínez, S. (2002). *Grupo Emergente de Investigación de la Universidad Mesoamericana. Guía de apuntes básicos para el docente de la materia de técnicas de investigación*. Recuperado de <http://www.geiuma-oax.net/asesoriasam>
8. Noriega, J. (2015). *Análisis de los Resultado de la Prueba de Elisa contra Anticuerpos de PPC en la región periférica de Guatemala 2014-2015*. Guatemala: MAGA
9. Orellana, D. (2012). *La Peste Porcina Clásica en Guatemala en Noviembre del 2011*. Guatemala: MAGA
10. PREFIP-OIRSA. (2005). *Manual de procedimientos para el Control y erradicación de Peste Porcina Clásica* . San Salvador, El Salvador: OIRSA

11. Spickler, A. R. (2015). *The Center for food Security & Public Health*. Recuperado de <http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/disease.php?name=classical-swine-fever&lang=es>

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

**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**

f. _____
MELISSA MONZÓN REINHARD

f. _____
M.V. Edgar Leonel Bailey Leonardo
ASESOR PRINCIPAL

f. _____
M.V. Alejandro José Hun Martínez
ASESOR

f. _____
M. A. Yeri Edgardo Veliz Porras
EVALUADOR

IMPRÍMASE

f. _____
M.Sc. Carlos Enrique Saavedra Vélez
DECANO