



UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA

FACULTAD DE VETERINARIA

Departamento de Medicina y Sanidad Animal
Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias

EPIDEMIOLOGÍA DE LA ASCARIOSIS PORCINA EN EXTREMADURA



JOSÉ MARÍN SÁNCHEZ MURILLO
Cáceres, Junio de 2003



Edita: Universidad de Extremadura

Servicio de Publicaciones

c/ Pizarro, 8

Cáceres 10071

Correo e.: publicac@unex.es

<http://www.pcid.es/public.htm>



UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA

FACULTAD DE VETERINARIA.

Departamento de Medicina y Sanidad Animal.

Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias.

EPIDEMIOLOGÍA DE LA ASCARIOSIS PORCINA EN EXTREMADURA.

JOSÉ MARÍN SÁNCHEZ MURILLO

Cáceres, Junio de 2003.



UNIVERSIDAD DE
EXTREMADURA

FACULTAD DE VETERINARIA.

Departamento de Medicina y Sanidad Animal.

Cátedra de Parasitología, Enfermedades Parasitarias.

EPIDEMIOLOGÍA DE LA ASCARIOSIS PORCINA EN EXTREMADURA.

VºBº

El Director

VºBº

El Director

VºBº

El Director

Ignacio Navarrete

Francisco J. Serrano

David Reina

Memoria presentada por el Licenciado en Veterinaria

José Marín Sánchez Murillo

para optar al grado de Doctor en Veterinaria

IGNACIO NAVARRETE LÓPEZ-CÓZAR, FRANCISCO JAVIER SERRANO AGUILERA y DAVID REINA ESOJO, Profesores del Área de Parasitología, del Departamento de Medicina y Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Extremadura y directores de la Tesis Doctoral **"EPIDEMIOLOGÍA DE LA ASCARIOSIS PORCINA EN EXTREMADURA"**, de la que es autor el Licenciado en Veterinaria **D. José Marín Sánchez Murillo**.

INFORMAN

Que dicha memoria ha sido realizada por el mencionado Licenciado, bajo nuestra dirección, y que cumple las condiciones exigidas por la legislación y las normativas vigentes para su presentación y defensa como Tesis Doctoral.

Cáceres, junio de 2003.

"A mi esposa y a mis hijos Ana, Marina y Arturo, a mis padres, a mis hermanos, a mis amigos y muy especialmente a mi amiga Maribel Zapatero, que no podrá acompañarnos en la lectura de esta Tesis como hubiera sido su deseo, pero que seguro, desde algún lugar nos estará viendo y estará presente siempre en nosotros.



ÍNDICE

2.4.2.- Prevalencia y distribución geográfica	65
3.- MATERIAL Y MÉTODOS	71
3.1.- DISEÑO EXPERIMENTAL.....	73
3.1.1.- Animales objeto de estudio.....	73
3.1.2.- Recogida y procesado de las muestras	74
3.1.3.- Zonas de muestreo.....	76
3.1.4.- Cronología del muestreo	82
3.2.- METODOLOGÍA DIAGNÓSTICA	83
3.2.1.- Sobre la elección del medio diagnóstico.....	83
3.2.2.- Test ELISA.....	84
3.2.2.1.- Fundamento	84
3.2.2.2.- Optimización	85
3.2.2.3.- Reactivos utilizados.....	87
3.2.2.4.- Desarrollo de la técnica	88
3.3.- MEDIOS INSTRUMENTALES	92
3.3.1.- Medios de laboratorio.....	92
3.3.2.- Medios fotográficos	93
3.3.3.- Medios informáticos.....	93
3.4.- MÉTODOS ESTADÍSTICOS.....	94
4.- RESULTADOS	95
4.1.- ESTABLECIMIENTO DE LÍMITES DIAGNÓSTICOS. RESULTADOS GLOBALES DEL ESTUDIO.....	97
4.2.- DISTRIBUCIÓN DE MUESTRAS Y RESULTADOS SEGÚN LOS GRUPOS DE EDAD.....	98
4.3.- RESULTADOS SEGÚN TEMPORALIDAD DE MUESTREO.....	103
4.4.- RESULTADOS SEGÚN CLIMATOLOGÍA Y POBLACIÓN.....	113
4.5.- RESULTADOS SEGÚN LA DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	117
4.5.1.- Resultados por Provincias	117
4.5.2.- Resultados por Comarcas	119
4.5.3.- Resultados por Oficinas Veterinaria de Zona	126
4.5.4.- Resultados por Municipios	129

5.- DISCUSIÓN	135
5.1.- SOBRE EL ESTABLECIMIENTO DE LÍMITES DIAGNÓSTICOS Y LOS RESULTADOS GLOBALES DEL ESTUDIO	137
5.2.- SOBRE LA DISTRIBUCIÓN DE MUESTRAS Y RESULTADOS SEGÚN LOS GRUPOS DE EDAD.....	146
5.3.- SOBRE LOS RESULTADOS SEGÚN LA TEMPORALIDAD DE MUESTREO.....	152
5.4.- SOBRE LOS RESULTADOS SEGÚN CLIMATOLOGÍA Y POBLACIÓN.....	156
5.5.- SOBRE LOS RESULTADOS SEGÚN LA DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	160
5.5.1.- Por Provincias	160
5.5.2.- Por Comarcas	170
5.5.3.- Por Oficinas Veterinarias de Zona	172
5.5.4.- Por Municipios	172
6.- CONCLUSIONES	175
7.- RESUMEN	179
8.- SUMMARY	185
9.- BIBLIOGRAFÍA	191
10.- AGRADECIMIENTOS	217



INTRODUCCIÓN

El parasitismo, entendido como la dinámica evolutiva de las diferentes especies parásitas que afectan a los animales de una explotación en concreto, es un proceso complejo y multifactorial en el que, en este caso, el ganado porcino no es más que un espectador pasivo, a tenor de la prevalencia parasitaria del hábitat donde se desarrolla, de las condiciones ambientales del momento y de las condiciones particulares de manejo de la explotación a la que pertenecen, que pueden o no favorecer el desarrollo de dichas especies. En este sentido, la problemática parasitaria varía considerablemente en los diferentes sistemas de explotación que, tradicionalmente, se siguen en nuestro país.

En la mayoría de ocasiones las estrategias antiparasitarias se aplican de acuerdo con un calendario preestablecido y repetitivo, sin saber, a ciencia cierta, si dichas actuaciones, generalmente tratamientos farmacológicos, son necesarios, específicos y, sobre todo, eficaces. En todo caso, son muy escasas las explotaciones que realizan estudios básicos con el fin de poder cuantificar la incidencia de los distintos géneros parásitos en sus animales y con ello optimizar sus producciones.



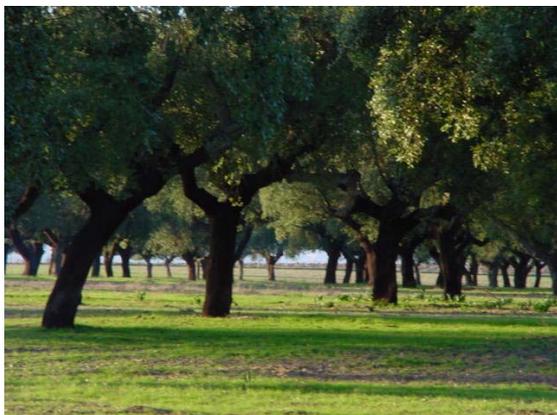
Fig. 1. Porcinos ibéricos.

El cerdo ibérico, descendiente de "*Sus mediterraneus*", (Fig. 1) está adaptado a las difíciles condiciones medioambientales de la dehesa. Su rusticidad, comportamiento en el pastoreo, potencial adipogénico, metabolismo anabólico y desarrollo tardío, lo diferencia nítidamente de otras razas porcinas.

En la actualidad la cría del cerdo ibérico sigue ligada a las regiones del suroeste español, correspondiente al Oeste de una línea imaginaria trazada desde Almería hasta Zamora. Cuantitativamente, Extremadura se mantiene a la cabeza en el número de reproductores, siendo Badajoz la principal

provincia, seguida a mucha distancia por Málaga, donde no existe un predominio evidente de las hembras cruzadas.

Fig. 2. Paisaje adehesado



Las dehesas (Fig. 2) dan lugar a un peculiar sistema de explotación, caracterizado por un conjunto forestal, con sus frutos (bellotas), y una cubierta herbácea, más o menos aparente en función de la estación meteorológica. En dicho ecosistema pueden añadirse posibles cultivos cerealícolas, lo que determina una rotunda aptitud ganadera, donde la

especie porcina juega un papel fundamental por su condición de monogástrico y su gran capacidad de aprovechamiento energético.

En conjunto las dehesas constituyen un ecosistema que viene dado por la relación animal - suelo - animal, donde cualquier acción realizable sobre alguno de los elementos componentes del mismo puede provocar la alteración del conjunto y la posible desaparición de estas zonas.

La explotación extensiva del cerdo ibérico es uno de los pocos sistemas productivos animales con una relación animal - medio ambiente completa. Por ello, esta raza no tiene razón de ser fuera de su entorno habitual, la dehesa. El auge que este tipo de explotación ha experimentado en la década de los noventa está motivado, tanto por la eficacia de la especie en el aprovechamiento de los recursos que le ofrece el ecosistema y la alta calidad de los productos, principalmente curados, como por la creciente demanda de productos naturales, social y culturalmente muy apreciados en la actualidad.

Gracias al sistema de montanera (Fig. 3), que conjuga eficazmente alimentación, ejercicio y raza, existe un porcentaje apreciable de ácidos grasos monoinsaturados en la grasa de los productos del cerdo ibérico, a diferencia de aquellos procedentes de cerdos criados con piensos comerciales en régimen intensivo. Recientes estudios médicos ponen de

manifiesto el efecto beneficioso que sobre la salud tiene el consumo de este tipo de grasas, como alternativa a carnes con un mayor grado de saturación.

Fig. 3. Porcinos ibéricos en dehesa.

Sin embargo, hoy en día, un gran porcentaje de cerdos criados en España se encuentran en sistemas intensivos de explotación, más o menos modernos. Estos sistemas han permitido mejorar la higiene de las instalaciones, facilitando el lavado de las mismas y en muchos casos la implantación de manejos denominados "todo dentro - todo fuera" (TD/TF). Así, los cerdos poseen menos acceso a sus deyecciones, lo que ha desembocado en una reducción importante de los parásitos presentes en las granjas, al prevenirse, en buena medida, el cierre de los ciclos de infección.



En muchas ocasiones se ha postulado que la menor rentabilidad de las explotaciones porcinas es aún debida a las "limitaciones sanitarias" que impiden una utilización óptima del potencial genético, o bien a una falta de conocimientos en alimentación, estructurales ambientales, etc. En este orden de cosas, las parasitosis son indudablemente uno de los principales obstáculos para la obtención de una elevada eficacia en la explotación porcina, por lo que el objetivo de obtener "explotaciones libres de parásitos" deberá considerarse prioritario.

Dicho esto, no puede olvidarse que el protagonismo de los procesos parasitarios es, en general, mucho más acusado en las explotaciones de carácter extensivo o semiextensivo por la mayor dificultad en controlar determinadas fases parasitarias. Así, en las explotaciones extensivas existe una limitación en el ámbito de la quimioprevención, que hace que los animales tengan acceso a todo tipo de hospedadores intermediarios (lombrices de tierra, caracoles, escarabajos coprófagos, vegetales silvestres con larvas enquistadas, etc.). En adición, el tipo de explotación facilita las infecciones

INTRODUCCIÓN

debidas a la ingestión de heces con elementos de diseminación parasitarios, o de cadáveres de animales silvestres infectados (zorros y otros carnívoros salvajes); en todo caso favoreciendo la transmisión de parásitos, bien monoxenos, bien heteroxenos.

Igualmente, hay que tener en cuenta que en las explotaciones extensivas, la prevalencia de las diferentes endoparasitosis suele ser muy alta y puede variar de un año a otro e incluso de una estación a otra. Sobre la frecuencia de parasitación en los cerdos de montanera de la provincia de Badajoz, y a título de ejemplo, PÉREZ-MARTÍN *et al.* (1996) denuncian que el 95'88% de las explotaciones porcinas extensivas o semiextensivas de dicha provincia albergan endoparásitos.

No es nada nuevo decir que las consecuencias económicas de las enfermedades parasitarias, están relacionadas con la pérdida de peso, peores índices de transformación, decomisos en la inspección veterinaria, etc. En pocas ocasiones se producen bajas y, a veces, los procesos cursan sin sintomatología aparente, pese a que se produzcan los efectos negativos antes reseñados.

Centrados en la parasitología que nos ocupa en este trabajo doctoral, *Ascaris suum* (Goeze, 1782), parásito ubicado en intestino delgado, puede ser quizás el nematodo más frecuente en el cerdo. En este sentido, son innumerables las citas bibliográficas que nos ofrecen datos sobre la parasitación por *A. suum*, tanto mediante análisis coprológicos como tras la observación de los parásitos adultos en sus ubicaciones intestinales o de hígados afectados por las denominadas "manchas de leche" en las inspección veterinaria en mataderos (Figs. 4 y 5).

En países como EE.UU. de Norteamérica, con gran cantidad de explotaciones intensivas, las prevalencias son elevadísimas (BIEHL, 1984; MORRIS *et al.*, 1984, o KENNEDY *et al.*, 1988). Aunque elevados también, no lo son tanto en EUROPA, donde a pesar de poseer explotaciones de tipo intensivo, las parasitaciones son más bajas, posiblemente por la mejora de las condiciones higiénicas (TRALDI *et al.*, 1988).

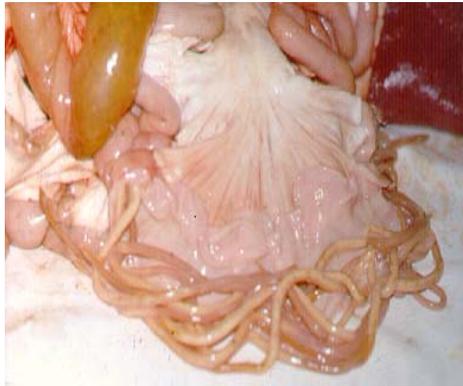
Fig. 4. Adultos de *Ascaris suum*.

Fig. 5. Manchas de leche hepáticas.



Lógicamente, las explotaciones porcinas españolas no son ajenas a esta parasitación. Existen trabajos que revelan su presencia tanto a escala nacional como en el ámbito de nuestra Comunidad Autónoma. Entre ellos, SIMON VICENTE (1979) afirma que en España, *Ascaris suum*, junto a los acantocéfalos, son los parásitos de mayor interés en los suinos de la dehesa, ya que al pastar y hozar libremente, tienen capacidad de contaminarse fácilmente. Por otra parte, PÉREZ-MARTÍN *et al.* (1996), en su estudio sobre la parasitofauna del cerdo ibérico en Extremadura, indican que *Ascaris suum* es un nematodo de muy frecuente presentación, a pesar de poseer un ciclo evolutivo directo y ser típico de explotaciones intensivas. Dichas afirmaciones están basadas en el hallazgo de una prevalencia superior al 37,04 % de los animales investigados, no observando, sin embargo, y en la mayoría de casos una carga parasitaria elevada.

Con los antecedentes expuestos, la primera razón que justifica la realización de este trabajo viene enmarcada en el contexto de la investigación relativa a la lucha frente a las patologías parasitarias responsables de cuantiosas pérdidas. Por un lado debidas a la reducción directa en los índices de producción, así como a la inmunodepresión que provocan; dicha actuación repercute en deficientes respuestas vacunales y estados protectores frente a otros agentes nosógenos, virus, bacterias y hongos. En este sentido, de todos son conocidas las migraciones larvarias de *Ascaris suum* a través de hígado y pulmón, ocasionando daños importantes y dejando el terreno abonado para el padecimiento de neumonías de etiología variada.

INTRODUCCIÓN

Por otro lado, la escasez de trabajos epidemiológicos efectuados con técnicas de elevada sensibilidad justifica adicionalmente este trabajo. Una vez estandarizada una técnica inmunológica, como es la técnica ELISA, con los distintos tipos antigénicos, sería muy conveniente conocer la respuesta inmune desarrollada por los distintos colectivos animales, incluyendo animales de todas las edades, escogidos al azar y pertenecientes a sistemas extensivos de explotación. La utilización de las técnicas analíticas en las explotaciones de porcino, tanto en el ámbito reproductivo como de cría, permiten ponderar, de una forma rápida, la prevalencia parasitaria. Dicha información nos permite obtener datos objetivos sobre el estado sanitario de la población, pudiendo corregir las desviaciones generales y particulares, a fin de reducir las pérdidas económicas que pudieran derivarse a corto y largo plazo.

Finalmente, este estudio está plenamente justificado, sea cual fuere su orientación o cometido, al tratarse de una raza como el cerdo ibérico, única en el mundo por sus características de relación con el medio ambiente, y como no, por sus productos, cada día con mayor aceptación gastronómica, y avalados, últimamente, por sus beneficios para la salud humana.



REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1.- TAXONOMÍA.

El orden *Ascaridida*, donde se encuadra el parásito objeto de estudio, *Ascaris suum*, incluye parásitos que, en su mayoría, tienen cuerpos gruesos, siendo muchos de gran tamaño. Los machos carecen de bolsa copuladora y su cola puede llevar papilas (Fig. 6). Las especies de este orden tienen tres labios alrededor de la boca, uno dorsal y dos subventrales (Fig. 7). Los huevos son ovales o esféricos y poseen gruesas cubiertas de superficie irregular.

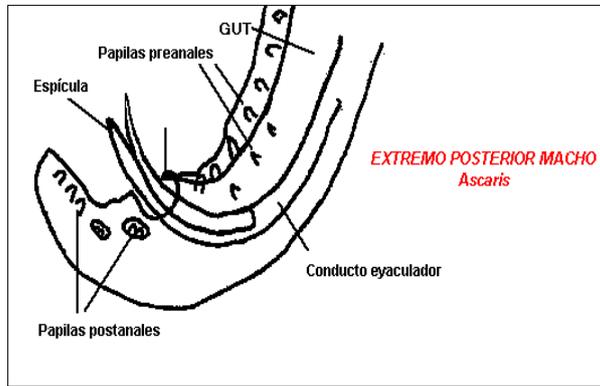
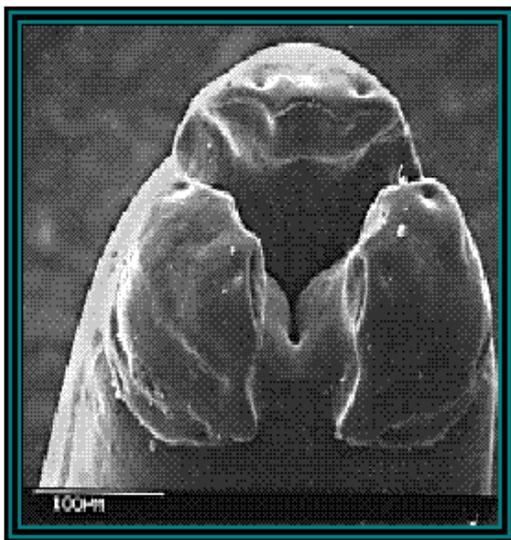


Fig. 6. Extremo posterior macho *Ascaris suum*.

Los parásitos adultos poseen un ciclo vital generalmente directo, viviendo unos en el intestino delgado del hospedador (por ejemplo *Ascaris*, *Ascaridia* o *Strongyloides*), en el intestino grueso (*Oxyuris*, *Passalurus*), o en el ciego de las aves (*Heterakis*).

Fig. 7. Extremo anterior *Ascaridida*.



Concretando a nivel de familia, *Ascarididae*, posee nematodos robustos, relativamente grandes. Los tres labios característicos del orden están bien definidos y llevan papilas y, en algunas especies, una serie de dientes diminutos. Entre los labios puede haber interlabia. No hay cápsula bucal quitinosa ni tampoco existe faringe. Las alas caudales generalmente no existen o están poco desarrolladas en el macho, pero las papilas caudales, la mayor parte de las cuales son preanales, pueden ser

numerosas. La vulva, o poro genital de la hembra, se encuentra generalmente por delante de la parte media del cuerpo (LAPAGE, 1982).

Los parásitos del género *Ascaris* (Fig. 8) son verdaderos gigantes comparados con la mayoría de los nematodos. No existe ventrículo en el extremo posterior del esófago. La cola del macho es cónica, sin alas caudales, pero con numerosas papilas. Las espículas son iguales y no son aladas; no tienen gubernáculo. La vagina de la hembra se dirige directamente hacia atrás y poseen dos úteros. El ciclo vital es directo, aunque pueden existir en algunos casos hospedadores de transporte. Dentro de este género se encuentra *Ascaris suum*, que es el ascarídido del cerdo, el gran gusano redondo o frecuente en el cerdo (LEVINE, 1978).

Fig. 8. *Ascaris suum*.



De manera escueta, la taxonomía de este género se establece de la siguiente manera:

PHYLUM: *Nemathelminthes*.

CLASE: *Nematoda*.

SUBCLASE: *Secernentea (Phasmidia)* (Dougherty, 1958).

ORDEN: *Ascaridida* (Skrjabin, 1915).

SUPERFAMILIA: *Ascaridoidea* (Raillet y Henry, 1915).

FAMILIA: *Ascarididae* (Blanchard, 1849).

SUBFAMILIA: *Ascaridinae* (Lane, 1923).

GÉNERO: *Ascaris* (Linneo, 1758).

ESPECIE: *Ascaris suum* (Goeze, 1782).

2.2. - SOBRE EL PARÁSITO.

2.2.1. - Morfología.

2.2.1.1.- Adultos.

A. suum es un parásito muy elongado y fusiforme, de color rosado amarillento. En su extremo cefálico aparecen tres labios con finos denticulos en el margen anterior (Fig. 9). El labio dorsal es más ancho que los lateroventrales con una

doble papila en cada uno. Carece de interlabia y su esófago puede alcanzar los 6-6'5 mm de longitud.

Fig. 9. Extremo anterior *Ascaris suum*.



La longitud del macho se sitúa entre los 15-31 cm (Fig. 10), mientras que su anchura oscila de 2 a 4 mm. Su extremidad posterior es cónica y puntiaguda, algo curvada ventralmente. Presenta 75 pares de papilas preanales, una papila impar en el labio anterior de la cloaca y siete pares de papilas postanales. De estas últimas, dos pares, situadas más cerca de la cloaca, son dobles y, las demás son sencillas. Presentan dos espículas iguales, algo curvadas, de unos 1'8-3'5 mm de longitud.

Fig. 10. *Ascaris suum*. Adulto.



La hembra puede alcanzar unos 20-49 cm de longitud por 3-6 mm de anchura. Su extremo posterior posee un apéndice cónico redondeado y dos anchas papilas postanales, situadas lateralmente. La vulva se sitúa en el tercio medio del cuerpo, en una constricción anular característica, que facilita la unión durante la cópula (MOZGOVOI, 1968; SCHMIDT y ROBERTS, 1984; SOULSBY, 1987a).

2.2.1.2. - Larvas.

La larva presente en el huevo se caracteriza por tres labios, los cuales forman una protuberancia oral definida. Estas larvas son mucho más pequeñas que las de *Toxocara* y presentan distintos orgánulos, tales como aparato bucal, esófago, anillo nervioso, glándulas esofágicas, célula excretora, intestino y primordio genital (Fig. 11).

Fig. 11. *Ascaris suum*. Larva.



Las alas laterales son muy pequeñas y se extienden unos 15 μm en los extremos anterior y posterior. La cutícula carece de estriaciones. Los núcleos ganglionares ocupan toda la cavidad corporal ocultando la mayor parte del esófago, excepto la porción terminal. El intestino carece de lumen y se estructura en siete células poseedoras de gránulos refráctiles. El núcleo de la célula excretora es una estructura oval de unos 6 μm de longitud. En estas larvas también pueden

observarse unas pequeñas columnas secretoras (NICHOLS, 1956; BARDÓN, 1992)

2.2.1.3. - Huevos.

Los huevos no fertilizados miden aproximadamente 90 μm de longitud, suelen ser alargados y su cáscara posee una capa media relativamente delgada, y a veces una mamelonada externa. Estos huevos son producidos por hembras no apareadas, y se observan con frecuencia en las heces de porcinos parasitados. Su estructura interna consiste en una masa de gránulos desorganizados, altamente refringentes y de variados tamaños. Tanto los huevos fértiles como los infértiles, en ocasiones carecen de la capa albuminoide externa (BEAVER *et al.*, 1986; CHANDLER y READ, 1965; BARDÓN, 1992).

Fig. 12. *Ascaris suum*. Huevo.

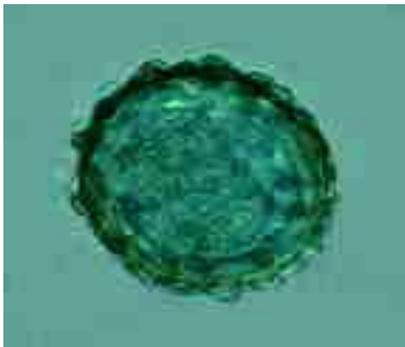


Fig. 13. *Ascaris suum*. Huevo larvado.



Los huevos fertilizados (Figs. 12 y 13) son anchos y ovoides, con una cápsula gruesa y transparente, constituida por una membrana vitelina interna, relativamente impermeable y de naturaleza lipoidea, la cual no se encuentra en los huevos infértiles; una capa media transparente y gruesa y una capa externa, mamelonada albuminoide y generalmente teñida de un color café dorado. La membrana vitelina es inerte, y debido a su impermeabilidad evita que sustancias tóxicas del medio ambiente puedan lesionar al embrión. Estos huevos miden 60-75 μm por 50-55 μm en su diámetro menor; cuando son esféricos tienen alrededor de 60 μm de diámetro. El huevo no está segmentado y cuando se elimina con las heces contiene una masa de gránulos gruesos de lecitina.

2.2.2. - Antígenos.

2.2.2.1. - Obtención de antígenos somáticos.

Con relación a la obtención y purificación de antígeno procedente de fluido pseudocelómico, DUBINSKY *et al.* (1982) postulan la conveniencia, como pasos previos, de recoger adultos de *A. suum*, lavarlos en buffer salino, para posteriormente abrirlos y recoger el fluido perivisceral. Una vez obtenido dicho fluido, estos autores proceden a su centrifugación, a 1000 g durante 10 minutos, tras lo cual recogen 0'4 ml del sobrenadante, que es diluido al 13% con NaCl 0'85% (0'4 ml de sobrenadante x 3 ml de NaCl). Por su parte, RHODES y STAUDINGER (1983) extraen fluido pseudocelómico de *Ascaris* adultos, separando distintas fracciones por gradientes de sacarosa.

En el mismo año, ZENKA y PROKOPIC (1983) recogen fluido pseudocelómico de *A. suum*, centrifugándolo posteriormente, durante 10 minutos a 23000 g, con objeto de purificar parcialmente el antígeno que comentamos.

TANAKA *et al.* (1983) realizan igualmente la obtención de antígeno pseudocelómico a partir del fluido corporal de individuos adultos de *Ascaris suum*. Para ello, proceden a la punción del extremo posterior de los mismos, obtención del fluido y filtración del mismo a través de papel Whatman n° 1.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Tras ello, dializan frente a agua destilada, liofilizando posteriormente el antígeno purificado.

Finalmente, y en 1988, URBAN *et al.* drenan el fluido pseudocelómico de la cavidad corporal de aproximadamente 200 hembras. Este líquido es posteriormente centrifugado a 20000 g durante 20 minutos y filtrado a través de un tamiz (0'45 μm de grosor de poro), conservando la solución resultante como antígeno a -20°C .

Respecto a la obtención de antígeno cuticular de vermes adultos de *A. suum*, ARCHER *et al.* (1985) realizan, en primer lugar el lavado de la cutícula de estos parásitos, utilizando solución salina con Tritón x 100 al 1%. Tras ello, se procede a la eliminación del músculo remanente y a la rotura de dicha cutícula, utilizando una batidora. Después de lavar 3 veces en solución salina y resuspender a una concentración de 8 mg/ml, realizan un calentamiento de dicho material, sometiéndolo a sesiones de 60°C durante una hora y durante 3 días consecutivos, con el fin de asegurar la esterilidad de la suspensión.

Por otra parte, MAGNAVAL *et al.* (1986) diseccionan adultos de *T. canis* y, tras separar individualmente sus estructuras, homogeneizan la cutícula y la ultracentrifugan durante 1 hora a 25000 g.

Siguiendo un orden cronológico de aportaciones a los procedimientos de obtención de estos antígenos, GERMÁN (1993) aísla saco muscular de *Ascaris* adultos, lavándolo en solución salina e introduciéndolo en tubos Eppendorf con 0'25 ml de Tris-ClH pH 7'1. Tras su homogeneización en frío, realiza una centrifugación para finalmente recoger el sobrenadante para su estudio.

En cuanto a los antígenos ovárico y uterino, debe mencionarse el carácter único que para muchos autores tienen ambos materiales. Tal es el caso de WU y FOOR (1982), que colectan fluido de, aproximadamente, 150 hembras, a lo largo de una zona de 3 cm, cuyo centro es la unión oviducto-útero. Este fluido es posteriormente centrifugado a 10000 g durante 5 minutos, con objeto de obtener un único antígeno de aparato reproductor.

Por su parte, DUBINSKY *et al.* (1982) tras recoger muestras procedentes de ovario de adultos de *A. suum*, las homogeneizan 10 veces con NaCl 0'85%, manteniéndolas durante 30 minutos a 4°C. Tras obtener 3 ml de la disolución, se centrifugan a 100.000 g durante 1 hora a 4°C. El sobrenadante es eliminado y el sedimento se mezcla nuevamente en 3 ml de NaCl 0'85%, repitiendo todo el proceso.

Igualmente, GERMÁN (1993) disecciona adultos de *A. suum* aislando el aparato reproductor en conjunto, preparando este antígeno del mismo modo al ya comentado para el antígeno cuticular.

En relación con el antígeno esofágico, no encontramos referencias a trabajos relacionados con la obtención y caracterización de este antígeno somático.

2.2.2.2. - Obtención de antígeno excretor-secretor de adultos.

Pocos son los autores que obtienen este antígeno a partir de la especie parásita que nos ocupa (*A. suum*). Entre ellos, KOMATSU *et al.* (1979) incuban 50 hembras en 2 litros de solución salina durante una noche a 37°C. Posteriormente, recogen el fluido obtenido y lo centrifugan a 3000 rpm, durante 20 minutos. Finalmente es concentrado hasta 50 ml por ultrafiltración.

La mayoría de trabajos que refieren la obtención de este antígeno a partir de individuos adultos, se centran *Toxocara spp.* Entre ellos, KOIZUMI *et al.* (1983) recogen vermes adultos de *Toxocara canis*, lavándolos en solución salina estéril e incubándolos, a 30°C durante 18 horas, en 100 ml de PBS con penicilina y estreptomicina. El cultivo es cambiado cada 3 horas, recogándose finalmente un pool de todos esos cultivos.

Por otra parte, AMERASINGHE *et al.* (1992) recogen 134 vermes adultos de *T. vitulorum*, que, tras lavados repetidos e incubación en 500 ml de PBS con antibióticos durante 24 horas, centrifugan el medio de cultivo a 1700 g durante 30 minutos, conservándolo hasta su uso a -20°C.

2.2.2.3.- Obtención de otros antígenos.

Muchos autores han obtenido extracto bruto de adultos de *A. suum* como antígeno para sus experimentos. Una de las primeras referencias bibliográficas es la de IZZAT y OLSON (1970) que tras lavar los vermes en solución salina estéril, los homogeneizan en batidora con PBS 0'15N, pH 7'2 durante 10 minutos. Posteriormente se mantienen toda la noche a 5°C, para finalmente liofilizarlos y conservarlos a -20°C.

Más tarde, en 1974, TORRES y BARRIGA también obtienen Ag bruto de adultos de *A. suum*; tras 5 lavados con NaCl 0'15M, cortan el parásito en pequeños trozos, los cuales son suspendidos en solución tamponada. Posteriormente, son homogeneizados en un baño de hielo a 25000 rpm durante 10 períodos de 1 minuto y centrifugados a 12750 g durante 30 minutos a 2°C. El sobrenadante se conserva a -15°C.

MIKULIKOVA (1976) postula una extracción de proteínas con buffer Tris-glicina 0'1M pH 8'3, tras realizar repetidos lavados de los adultos en suero salino al 0'9%, y una homogeneización previa a la extracción. Este homogeneizado se centrifuga durante 25 minutos a 25000 g, recogándose posteriormente el sobrenadante.

En 1979, KOMATSU *et al.* homogeneizan mecánicamente los adultos en baño de hielo con PBS pH 7'0, centrifugan a 10000 rpm durante 30 minutos y a 4°C, usando el sobrenadante como extracto crudo. En ese mismo año, MARRETA y CASEY (1979) preparan antígeno a partir de adultos, disolviendo 600 mg de helmintos liofilizados en 60 ml de agua destilada. Después de homogeneizar y mantener 2 horas a 5°C, centrifugan a 650 g durante 15 minutos y filtran el sobrenadante, utilizando un grosor de poro de 0'45 µm.

CAMPOS *et al.* (1981) trituran los vermes en suero salino, utilizando un homogeneizador en frío. Estos autores mantienen los restos de dichos nematodos durante 12-14 horas en refrigeración a 4°C, agitando 3-5 veces; posteriormente centrifugan a 3000 rpm durante 20 minutos y conservan el sobrenadante.

En 1988, ÁGUILA *et al.* sonicán los helmintos y luego delipidan con n-hexano. El homogeneizado lo centrifugan a 50000 g durante 30 minutos y el sobrenadante se conserva a -20°C.

En 1992, BHALLA *et al.* proceden a la limpieza en medio NSS y a la maceración de los parásitos adultos en un mortero, adicionado de PBS 7'4. Tras congelar y descongelar varias veces, centrifugan a 10000 rpm y 4°C durante 30 minutos, recogiendo, finalmente el sobrenadante.

Del mismo modo, CAMARGO *et al.* (1992) usan un antígeno procedente de un extracto crudo de adultos de *A. suum*, el cual es obtenido tras cortar, triturar y homogeneizar los helmintos. Posteriormente se adiciona al material obtenido NaOH 1M, en una proporción de 1'5 ml por 8'5 ml de extracto, neutralizándose toda la solución con 1 ml de HCl. Finalmente se realiza una centrifugación a 1500 rpm durante 1 hora y el filtrado se pasa a través de un tamiz de 0'22 µm de grosor de poro, adicionándole éter a una proporción 1:3 respecto al volumen final.

LUKES (1992), por su parte, disecciona los adultos en pequeños trozos y los homogeneiza en un mezclador durante 5 minutos. La fracción cruda es sedimentada a bajas revoluciones, mientras que el purificado se centrifuga nuevamente a 10000 rpm durante 1 hora.

Otros autores, como SMITH *et al.* (1983), han utilizado huevo embrionado como antígeno con fines inmunodiagnósticos, para lo cual proceden a su homogeneización, y posterior extracción en PBS.

Generalmente los antígenos preparados a partir de estados adultos de *Ascaris suum* han centrado su principal uso en el inmunodiagnóstico de esta parasitosis. Sin embargo, éstos muchas veces están contaminados con sustancias producidas por el hospedador dando resultados inespecíficos. Por ello, se empezaron a utilizar antígenos de estados larvarios, sobre todo los obtenidos a partir de extracto bruto larvario y de los productos de excreción.

En el primer caso, KOIZUMI *et al.* (1983) preparan extracto larvario homogeneizando las larvas con 10 volúmenes de PBS, procediendo

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

posteriormente a su sonicación. Esta solución es centrifugada a 10000 g durante 30 minutos, recogiendo el sobrenadante y dializando nuevamente con PBS.

Otros autores como LAUBACH (1984), preparan extracto de larvas tras la eclosión de huevos embrionados, recolección de larvas viables y homogeneización en una solución de sal balanceada de Hanks. Tras esta recolección congelan el homogenado a -70°C , realizando 4 descongelaciones y recongelaciones con el fin de romper células y tejidos larvarios, centrifugando ulteriormente la mezcla a 7000 g durante 20 minutos para recoger, como paso final, el sobrenadante y secreción larvarios.

Un año más tarde, URBAN y ROMANOWSKI (1985) obtienen extracto de L2 y L3 después de 14 y 28 días en cultivo. Mantienen las larvas en PBS con perlas de vidrio a 4°C en agitación vigorosa durante 18 horas. Centrifugan a 20000 g durante 30 minutos y conservan a -20°C .

En lo que respecta, igualmente y para finalizar, a los antígenos obtenidos a partir de un extracto bruto larvario, RHODES *et al.* (1988) sonicar extracto de larvas de *A. suum*, centrifugando a continuación a 5000 g durante 30 minutos. Desechan el sedimento y centrifugan nuevamente el sobrenadante a 82500 g durante 1 hora, para usar el sedimento de esta última centrifugación como antígeno.

Para la obtención de antígeno excretor-secretor larvario, STROMBERG (1979a) recoge semanalmente el sobrenadante de los cultivos preparados para facilitar la muda de las larvas; para lo cual realiza un lavado del medio por diafiltración con $\text{ClNa } 0'15\text{M}$ y una concentración 10 veces en Amicon YM10 antes de su uso.

Poco después, en 1981, URBAN y DOUVRES cultivan larvas de *A. suum* en medio de Dulbecco modificado por Eagle, suplementado con 1-glicil-1-histidil-lisina, incubando a 37°C con un 5% de CO_2 .

Para finalizar, HASWELL-ELKINS *et al.* (1989) recuperan larvas de pulmones de conejos infectados una semana antes, manteniéndolas en cultivo con suero bovino a 37°C durante 7 días. El medio es posteriormente dializado con PBS y conservado a -70°C .

2.2.2.4.- Caracterización antigénica.

Al igual que otros parásitos, *A. suum* ha sido ampliamente estudiado, mediante la utilización de diversas técnicas, con el fin de determinar su composición antigénica, así como sus características inmunológicas.

En relación con los estudios sobre composición antigénica, HOGARTH-SCOTT (1976) aísla y caracteriza del fluido pseudocelómico un alérgeno denominado ACF, poseedor de un peso molecular de 67 KDa. Un año después, MARTINETTO *et al.* (1968) separan 12 bandas antigénicas en un extracto de individuos adultos y 10 bandas de un extracto de ovario, mientras que JUSTUS e IVEY (1969) diferencian 18 bandas en un extracto de machos y 20 bandas en uno de hembras.

Caracterizando, igualmente el líquido pseudocelómico, ARAMBULO (1970) aísla en este sustrato 7 fracciones. Dos años más tarde, trabajando con este mismo antígeno, AMBLER *et al.* (1972) aíslan un alérgeno de 14 KDa (alérgeno A), HUSSAIN *et al.* (1972) realizan lo propio con otro de 18 KDa (asca).

Poco después, TORRES y BARRIGA (1974) estudian las características antigénicas del extracto bruto de adultos de *A. suum*, *A. lumbricoides*, *Toxocara mystax* y *Ascaridia galli*, utilizando para ello técnicas de difusión doble en agar e inmunoelectroforesis. Este estudio pone de evidencia el hallazgo de 9 componentes antigénicos en *A. suum* frente a un extracto homólogo de machos y 18 componentes frente a extracto homólogo de hembras.

Al igual que los autores anteriores, ZHELEVA (1975) realiza estudios comparativos en relación con la estructura antigénica de extractos adultos de *T. canis* y *A. suum*, a través del uso de sueros homólogos y heterólogos de conejos. Dicho estudio permite observar 32 componentes antigénicos en *A. suum* y 31 en *T. canis*, de los cuales, sólo 12 y 11 respectivamente son específicos a nivel de especie.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Según GERMÁN (1993) cit. OHINISHI y HORI (1977), el estudio exhaustivo de la enzima G6PD en *A. lumbricoides*, revela una fracción con un peso molecular de 235 KDa.

La inmunoelectroforesis sobre gel de almidón que realiza NASCETTI *et al.* (1979), pone en evidencia el gran polimorfismo enzimático de *A. suum*, el cual es corroborado más tarde por LESLIE *et al.* (1982), citando un total de 35 proteínas enzimáticas y no enzimáticas en este helminto.

En 1980, ABBAS y CAIN estudian las características antigénicas de los espermatozoides de *A. suum*, revelando 16 bandas, entre las que merece especial mención las pertenecientes a un polipéptido de 18'4 KDa y una glicoproteína de 12 KDa. Otras bandas evidentes son las de 51, 55 y 62 KDa, junto a otra de difícil ubicación por su elevado peso molecular.

A través de las técnicas de electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS), ZAYATS (1978) demuestra 24 fracciones proteicas en *A. suum* y un año más tarde, STROMBERG (1979b) aísla y caracteriza parcialmente una glicoproteína, obtenida a partir del antígeno excretor-secretor de L3, la cual presenta un peso molecular de 67 KDa.

Mediante esta técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida, WU y FOOR (1982) examinan la posible relación entre las diferencias antigénicas de la superficie de los oocitos y las detectadas en el fluido luminal de la cavidad de fertilización (oviducto). Determinan que ambos materiales presentan muchos polipéptidos entre 22 y 66 KDa. El oviducto y útero comparten más proteínas que el ovario, que es el único que posee las proteínas de mayor peso molecular (220 y 114 KDa). En cambio el ovario no presenta las bandas de 16 y 14 KDa que sí existen en útero y oviducto.

Este mismo año, DUBINSKY *et al.* (1982) hacen igualmente un examen exhaustivo de las características antigénicas de ovario, oviducto y fluido pseudocelómico. Las proteínas solubles de los oocitos mostraron un peso de 120, 115, 75 y 58 KDa y las no solubles de 140, 115, 90, 60 y 41. Las proteínas caracterizadas en el fluido pseudocelómico fueron de 140, 120, 115, 90 y 41 KDa.

Por otro lado, y utilizando la hemaglutinación como técnica de elección, GUPTA *et al.* (1982) demuestran, en conejo, que los antígenos de excreción-secreción de adultos, así como el antígeno obtenido a partir del órgano reproductor de hembras, son los menos inmunógenos entre los estudiados. Con esta misma técnica, SUÁREZ DE MATA *et al.* (1983) aíslan, por exclusión cromatográfica, una enzima de la cutícula de *A. suum* llamada 2-metil-acetoacetil-Co A reductasa, de punto isoeléctrico 8'45 y con un PM de 64, la cual posee 2 subunidades de 30 KDa.

En 1985, URBAN y ROMANOWSKY establecen, mediante SDS, el perfil proteico de los antígenos presentes en medios de cultivo de huevos, de L2 a L3 y de L3 a L4 "*in vitro*" comprobando menor complejidad que la presente en el antígeno de extracto bruto larvario. Además, estudian efectos de protección en conejos con *A. suum* mediante la técnica ELISA, utilizando antígeno de huevos o larvas a una concentración de 1µg proteína/pocillo, procesando los sueros a una dilución 1:100 y obteniendo unos resultados satisfactorios en cuanto a protección de la migración larvaria.

INOUE *et al.* (1985) aíslan, mediante SDS, un alérgeno del fluido pseudocelómico con 20 KDa y cuyo análisis de aminoácidos demostró su alto contenido en ácido glutámico, lisina y leucina, aunque con ausencia de metionina. Purificando este alérgeno en columna cromatográfica, su punto isoeléctrico se determinó entre 5 y 6.

WINKFEIN *et al.* (1985) estudian la cutícula de *A. Suum*, previamente tratada con b-mercaptoetanol, revelando 3 componentes, de Pm 99, 90 y 68 KDa., respectivamente, que representan el 95% del total del material solubilizado. La fracción no soluble, por su parte, muestra 4 componentes de 173, 154, 28 y 16 KDa, correspondiéndose el primero de ellos con una glicoproteína.

En 1986, KENNEDY y QURESHI estudian las fracciones proteicas de los productos de excreción-secreción de L2 y de L3, observando una heterogeneidad en los componentes entre 14 y 410 KDa.

Un año más tarde McWILLIAN *et al.* (1987) fraccionan un extracto de fluido perientérico de *A. suum*, detectando distintos componentes entre 16 y 600 KDa. Además, la combinación de la técnica de electroforesis en gel de

poliacrilamida (SDS) con la técnica RAST (técnica de radio-alergeno-absorción) indica que 2 componentes glicoprotéicos de alto Pm podían ser los alérgenos mayoritarios en este antígeno.

HASWELL-ELKINS *et al.* (1989) estudian el antígeno excretor-secretor larvario de *A. suum*, observando bandas de 11, 14, 20, 21, 28'5, 35'5, 41, 62, 72, 76, 86 y 105 KDa. Del mismo modo, utilizan dicho antígeno para el desarrollo de una inmunoprecipitación en el diagnóstico de la ascariosis humana por *A. lumbricoides*. En este mismo año, KENNEDY *et al.* (1989) comprueban, mediante SDS, las relaciones antigénicas entre los componentes somáticos y los secretados por *A. lumbricoides*, *A. suum* y *T. canis*, revelando que, efectivamente, existe similitud antigénica entre los 2 tipos de antígenos, mostrándose el de 14 KDa con la mayor homología.

HILL *et al.* (1990) identifican las proteínas cuticulares de las fases larvarias, juveniles y adultas de *A. suum* tras marcaje con biotina, encontrando bandas de 209, 111, 85, 70, 61, 38, 23, 18, 17, 16 y 14 KDa.

Por su parte, McGIBBON *et al.* (1990) identifican el mayor alérgeno del fluido pseudocelómico, la proteína nativa, con un Pm de 25 KDa, dividida en 2 monómeros de 10 KDa.

SOARES y MOTA (1992) aíslan, a partir del extracto bruto de adultos de *A. suum*, 2 componentes de 530 y 29 KDa, los cuales, al ser inoculados en cricetos produjeron, mediante análisis por inmunoblotting, una supresión y una inducción respectiva de la respuesta inmune en la producción de anticuerpos.

Posteriormente, GERMÁN (1993) al observar, por SDS, el patrón de individuos adultos (hembras y machos) de *A. suum*, detecta, en ambos casos, la presencia de 37 bandas proteicas, con 5 zonas características; una zona de Pm mayor de 97'4 KDa con 6 bandas proteicas; una zona entre 97'4 y 66'2 KDa con 5 bandas proteicas; una tercera entre 66'2 y 42'6 KDa con 9 bandas; la zona entre 42'6 y 30 KDa con 4 bandas y finalmente, una zona de Pm menor, de 30 Kda, con 10 bandas débilmente teñidas. Igualmente, al estudiar el perfil proteico de diferentes órganos de *A. suum* (saco muscular, intestino y aparato reproductor), detectan un total de 25 bandas en aparato reproductor e intestino y 27 bandas en saco muscular. De todas ellas 14 son comunes en los 3 tejidos, mientras que, por órganos, la exclusividad se centró en 1 banda

exclusiva para intestino, 4 para la musculatura y otras tantas para el aparato reproductor.

SÁNCHEZ MORENO *et al.* (1994) aíslan y purifican, a partir de un extracto bruto del nematodo objeto de estudio, una enzima con 36 KDa, denominada superóxido dismutasa. Por su parte WANG *et al.* (1994) analizan el perfil proteico del extracto bruto de los adultos de *A. suum* y *A. lumbricoides*, identificando numerosas bandas comunes entre 14 y 230 KDa pero ninguna de ellas específica de especie.

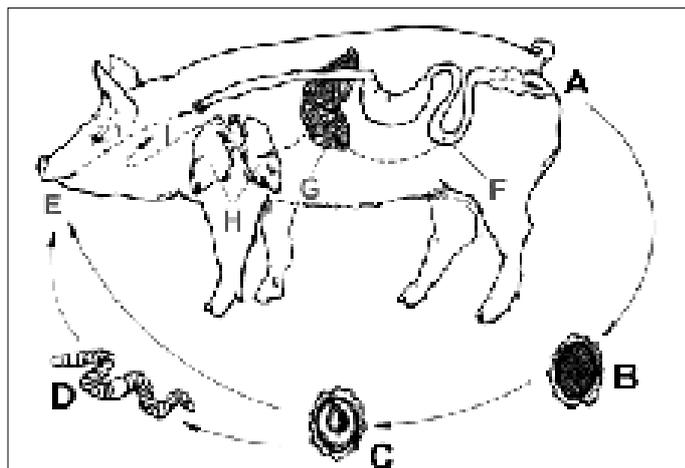
WARDLEW *et al.* (1994) estudian el fluido pseudocelómico, comprobando la existencia de una proteína con un Pm de 14 KDa, con clara capacidad bactericida frente a diversas bacterias gram positivas. En esta misma línea, KATO (1995) identifica, también en fluido pseudocelómico, la existencia de un factor antibacteriano, un factor bacteriolítico y 2 factores aglutinantes de 6, 6-9, 25 y 500 KDa, respectivamente.

Más recientemente, HOLLIDAY y ROBERTS (1995) estudian los espermatozoides de *A. suum*, extrayendo partículas de 30 nm, que analizadas por SDS presentan pesos moleculares de 33-42 y un grupo entre 52-56 KDa. Además, su estudio por inmunoblotting, demuestra una marcada especificidad con su material de origen, el esperma de *Ascaris suum*.

2.2.3. Ciclo Biológico.

El ciclo evolutivo del género *Ascaris* es directo (Fig. 14. Fases A-E). Las hembras depositan los huevos no segmentados en el intestino delgado, salen con las heces (A-B) y se dispersan en el medio exterior. Una hembra puede depositar unos 200.000 huevos diarios, aunque algunos autores

Fig. 14. Ciclo biológico de *Ascaris suum*.



sugieren que pueden producirse hasta 1-1'6 millones de huevos por día (CORDERO e HIDALGO, 2000). Estos son muy resistentes a los factores disgenésicos ambientales, como la falta de humedad, la congelación o el contacto con productos químicos tipo cresoles y fenoles. Esta bionomía le posibilita una viabilidad de hasta 5 años o incluso más. No obstante, el calor y la desecación, tal como ocurre en el suelo arenoso expuesto a la acción directa del sol, los destruyen en pocas semanas.

Como puede comprobarse en una gran cantidad de libros y tratados de Parasitología, tanto antiguos como recientes (BORCHERT, 1975; ; CORDERO e HIDALGO, 2000; URQUHART *et al.* 2001) ha sido aceptado que el ciclo vital de los ascarídeos incluía una larva de segundo estado en el interior del huevo como forma infectante, a diferencia del resto de nematodos no ascarídeos. Hace algunos años se fue publicada la hipótesis de que en el interior del huevo de *Ascaris suum* se desarrollaba una L3 como forma infectante (ARAUJO, 1972, citado por SOULSBY, 1987) y más recientemente esta teoría ha cobrado más fuerza, ya que se ha observado que dentro del huevo se realizan dos mudas (KASSAI, 1999; GEENEN *et al.*, 1999). En consecuencia y aún con las oportunas reservas, en el caso de *Ascaris suum*, se admite que la forma infectante es una larva de tercer estado que conserva la envuelta de los estados larvarios previos (C).

La larva raramente eclosiona (D), y normalmente la infección se realiza tras la ingestión de huevos infectantes con los alimentos (E), o a partir de contaminaciones epiteliales que las madres infieren a los lechones.

Tras la ingestión, estos huevos eclosionan (F) en el intestino del cerdo (ROGERS, 1958) necesitando cuatro estímulos, al menos, para su apertura: temperatura corporal óptima, nivel de anhídrido carbónico de aproximadamente 5 volúmenes/litro, pH 6 y condiciones reductoras no específicas, tales como las proporcionadas por cisteína, glutatión, bisulfito sódico o anhídrido sulfuroso (FAIRBAIRN, 1960, 1961). Usualmente, suelen encontrarse entre 5 y 10 individuos adultos en intestino delgado (NANSEN y ROEPSTORFF, 1999). En este sentido y en lo que a intensidad de infección se refiere, GARCÍA VALLEJO (1999) en porcino ibérico de montanera en Extremadura (España) observa que el 72' 7 % de los cerdos positivos presentan entre 1 y 5 individuos adultos. De 689 cerdos, sólo 1 animal mostró más de 50 individuos en intestino delgado (concretamente 69).

Subsiguientemente, las larvas atraviesan la pared intestinal para seguir una migración tisular. Así, la mayoría alcanzan, vía sistema porta-hepático, el hígado (**G**), aunque algunas, siguiendo una vía linfática, llegan a los ganglios mesentéricos y otras, pueden encontrarse ectópicamente en la cavidad peritoneal y otras localizaciones. Todas estas ubicaciones tienen un carácter claramente excepcional. La mayoría de las larvas pueden alcanzar el hígado 24 horas después de haber sido ingeridas, o incluso antes. En el hígado, las larvas no se fijan en un solo sitio, sino que se desplazan causando grandes daños a medida que lo hacen, provocando hemorragias y graves lesiones al destruir el tejido hepático. Dichas lesiones se presentan a modo de manchas blanquecinas (Fig. 15), denominadas por su coloración "manchas de leche" ("milk spot"). Tradicionalmente se ha convenido que, tras una primera muda endógena, las larvas invasivas se transforman en larvas de tercer estado a los 4 ó 5 días post-infección. De aquí pasan, vía sanguínea, al corazón para alcanzar el tejido pulmonar (**H**) en 5 ó 6 días más. Tras una 2ª muda se transforman en cuarto estado larvario (Fig. 16). No obstante, tras las recientes investigaciones que abogan por L3 invasivas, obviamente, habría que reconsiderar la secuenciación de mudas expuesta y hasta el momento aceptada. De uno u otro modo, las larvas atraviesan los capilares sanguíneos y migran lentamente desde los alvéolos a los bronquiolos, bronquios y, finalmente a la tráquea, teniendo lugar el pico de esta migración a los 12 días post-infección. A partir de aquí las larvas son deglutidas, llegando al intestino entre 14 y 21 días después de la infección (**I**). En ésta, su ubicación final, mudan al estado adulto aproximadamente tras un mes desde su ingestión.

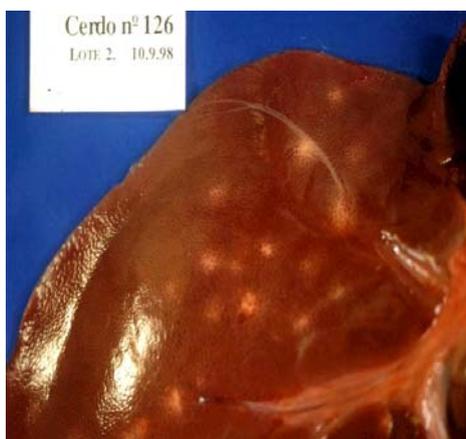


Fig. 15. Manchas de leche hepáticas.

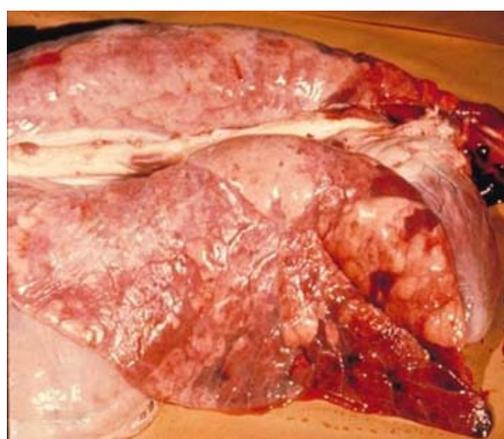


Fig. 16. Lesiones pulmonares.

El período prepatente dura aproximadamente de 6 a 8 semanas (NANSEN y ROEPSTORFF, 1999), caracterizándose los adultos por su gran longevidad ya que pueden vivir más de un año.

ERIKSEN (1980) y ERIKSEN *et al.* (1992a) realizan experimentos en los que estudian, de forma secuencial, las lesiones que presenta una camada de 10 lechones después de ser inoculados, a las 5 semanas de vida, con una o dos dosis de huevos de *Ascaris suum*. La resistencia se adquiere a las tres semanas de una inoculación masiva de huevos por vía oral, demostrando que las manchas blancas están más extendidas después de la 2ª infección que tras la primoinfección, y también que se produce una rápida desaparición de éstas entre los días 7 y 21 p.i., estando de acuerdo con otros autores que indican que la presencia de manchas blancas en cerdos sacrificados podrían suponer una reciente infección a partir de huevos infectantes. Por otro lado, inoculando cerdos de 25 kg de peso con dosis de 500 huevos, observan que alrededor de la 6ª semana se presenta un marcado número de manchas de leche, número que disminuye drásticamente en la semana 16, momento en que fueron sacrificados (90 kg de peso), posiblemente debido a la inmunidad y protección que adquieren con la edad.

2.2.4. - Diagnóstico.

Todas las técnicas diagnósticas ofrecen, como cabría esperar, ventajas e inconvenientes. El contaje de adultos en la ubicación intestinal es una lectura evidente de la existencia de la infección pero no es indicativo de los procesos migratorios larvarios que se producen en algunos cerdos de manera continua. Se han realizado experimentos relacionando el contaje de adultos a nivel intestinal con la presencia de manchas blancas en el hígado. Así por ejemplo, BERNARDO *et al.* (1990a) encuentran, mediante la técnica ELISA, que la presencia de manchas de leche tiene una escasa relación con la presencia de adultos. Tras el análisis de 386 cerdos en fase de cebo, el 34'6 % presentaban adultos de *A. suum* en el ámbito intestinal (26'1 % con contaje positivo de huevos), de los cuales el 82'4 % presentaban manchas de leche en hígado, que es el reflejo de una reciente migración larvaria (URBAN, 1986).

Por otro lado, el recuento de huevos en heces puede dar lugar a la aparición de falsos positivos y falsos negativos. Los resultados de falsos

negativos se producen como consecuencia de fallos en la detección de formas inmaduras o bien adultos de un solo sexo (JUNGERSEN *et al.*, 1997). Los falsos positivos son consecuencia del paso por el aparato digestivo (coprofagia) de huevos no embrionados procedentes de cerdos de corrales infectados, lo cual depende a su vez del sistema de explotación y grado de higiene de la misma. ROEPSTORFF (1998) demostró que el 52 % de los cerdos de cebo daneses presentaban un recuento menor de 200 huevos/gr (h/gr). Pudo comprobarse que estos animales carecían de adultos intestinales. GARCÍA VALLEJO (1999), en porcinos ibéricos extremeños, observa que el 51'2 % de los animales parasitados eliminan menos de 100 h/gr; animales, que tras su disección, se comprueba la ausencia de formas adultas a nivel intestinal. Observa también que el 11'2 % de los animales eliminan más de 1000 h/gr. Aunque los autores coinciden en que es imposible encontrar un valor de corte (cut-off) para el recuento de huevos en heces, que discrimine la existencia de actividad de adultos en los cerdos, valores menores de 200 h/gr podrían indicar que se trata de falsos positivos (BINDSEIL, 1974; ERIKSEN *et al.*, 1992a; BOES *et al.*, 1997; NANSEN y ROEPSTORFF, 1999).

Algunos autores han establecido un diagnóstico en orina, basado en la determinación de ácidos grasos volátiles extraíbles con benceno, cuya concentración, al parecer, se encuentra aumentada en cerdos parasitados por *A. suum* (SOPRUNOVA, 1968 y MONTEOLIVA *et al.*, 1979).

En lo que a inmunología se refiere, las infecciones con *A. suum* pueden estimular el desarrollo de una fuerte protección inmunitaria (ERIKSEN, 1980; ERIKSEN *et al.*, 1992a), lo que depende del nivel y duración de la exposición al parásito. Así, en infecciones individuales se ha visto que el número de formas adultas está correlacionado negativamente con la cantidad o tamaño de la dosis inoculada (ANDERSEN *et al.*, 1973; JORGENSEN *et al.*, 1975). Además de la inmunidad sistémica basada en la producción de IgG, se produce IgA a nivel intestinal, que impide el paso de las larvas a través de la mucosa, lo que conlleva una menor migración larvaria hacia hígado y pulmón (URBAN, 1986; ERIKSEN *et al.*, 1992b). Ya, en 1965, KELLEY y NAYAK demostraron en lechones amamantados por cerdas inmunes inoculadas experimentalmente con huevos de *A. suum*, que las larvas son frenadas en su penetración a través de la pared intestinal, existiendo también un bloqueo importante de larvas a nivel hepático, con la participación de los leucocitos.

Las posibles reacciones cruzadas entre *A. suum* y otros helmintos, han sido causa de muchos problemas en la optimización de test serológicos para medicina humana, cuando se usa fluido pseudocelómico u homogeneizado crudo. Reacciones cruzadas se ha denunciado entre *A. lumbricoides* y *Necator americanus* (PRICHARD *et al.*, 1991). FENOY RODRÍGUEZ *et al.* (1989) enfrentan, mediante ELISA, 39 sueros humanos positivos frente a un antígeno E-5 larvario de *Toxocara canis*, con extractos de adultos de *Toxocaris leonina* y *Ascaris suum*, observando que no existe reacción cruzada entre ellos. Con relación a este tema y haciendo uso de un ELISA indirecto con antígeno ES-L2/L3, LIND *et al.* (1993) hacen mención a que puede haber reacciones cruzadas con *Oesophagostomum dentatum* en piaras con fuerte parasitación por el mismo. A este respecto, ROEPSTORFF y NANSEN (1994) indican que *Oesophagostomum spp.* es mucho más sensible que *Ascaris suum* a los factores ambientales y por tanto raramente tiene mayor prevalencia que *A. suum*. BOGH *et al.* (1994) confirman, mediante ELISA indirecto, que existe una fuerte reacción cruzada entre *A. suum* y *Oesophagostomum spp.*, cuando se utiliza como antígeno fluido corporal de adultos, hecho que se minimiza utilizando antígeno ES-L2/L3. Hacen mención también a que, en Dinamarca, la presencia de *Oesophagostomum spp.* es baja por lo que no influye en el número de falsos positivos. Finalmente, haciendo igualmente uso de la técnica ELISA se demuestra que no existe reacción cruzada entre *Ascaris suum* y *Trichuris suis* (FURUYA *et al.*, 1995).

En cuanto a las técnicas de diagnóstico basadas en las características inmunológicas de esta parasitación, una de las primeras citas relativas al tema, deriva de los trabajos de OLSON (1960) que, tras introducir 3-24 larvas móviles de *A. suum* en 0'01 ml de suero, con 5 µg de estreptomina, son depositadas en gota pendiente en portas excavados e incubadas a 37°C. La observación microscópica de esta técnica de precipitación revela la formación de inmunoprecipitados en los orificios oral y excretor de las larvas.

Otra de las técnicas empleadas para el inmunodiagnóstico es la inmunofluorescencia indirecta (IFI). De este modo, ANNEN *et al.* (1975) detectan anticuerpos frente a *T. canis* y *A. suum* en conejos, usando secciones en congelación de larvas de *T. canis*. En 1977, STEVENSON y JACOBS investigan, mediante IFI, sueros de cerdos infectados por *T. canis*, *T. cati* y *A. suum*. El antígeno se prepara a partir de larvas de segundo estado; tras su maceración y sonicación la suspensión de cutículas fragmentadas resultante

de esta última, constituye el preparado antigénico. Un año después, WELCH y DOBSON (1978) conjugan los sueros problema con isotiocianato de fluoresceína para IF directa, empleando secciones de larvas de *T. canis* y *A. suum*. Estos mismos autores, realizan una IFI con antígeno total y anti-Ig humanas conjugadas con fluoresceína, estableciendo el límite de positividad en la dilución 1:16. Más tarde, SMITH *et al.* (1983) emplean la técnica de inmunofluorescencia (IFI) con secciones de adultos de *T. canis*, *T. leonina*, *A. lumbricoides* y *A. suum* para estudiar reacciones cruzadas con sueros de conejos inoculados.

Numerosos autores han utilizado la hemaglutinación como medio diagnóstico de la ascariosis. Así, HOGARTH-SCOTT y FEERY (1976) sensibilizan glóbulos rojos de carnero formolados con extractos antigénicos de *Toxocara sp.* y *Ascaris suum* (1'5 mg / ml), que posteriormente son usados como antígeno para investigar sueros de ratas infectadas por estos ascarídeos. Tras 2-4 horas a temperatura ambiente, observan la presencia o ausencia de aglutinación mediante una escala arbitraria de positividad ("+" a "++++"). Otros autores, como KOMATSU *et al.* (1979) y LUKES (1984), mediante hemaglutinación indirecta de glóbulos rojos de carnero sensibilizados con antígeno de este helminto, determinan títulos de anticuerpos específicos en ratones inmunizados con distintos antígenos de *A. suum* y conejos infectados con huevos de *A. suum*, respectivamente. Mediante la utilización de esta misma técnica, GUPTA *et al.* (1982) demostraron en conejo, que los antígenos de secreción y excreción de adultos y los provenientes de órganos reproductores de hembras, fueron los menos inmunógenos de todos los estudiados.

Otra de las técnicas utilizadas para estos fines ha sido la intradermorreacción, para la cual WONG *et al.* (1976) inyectan extractos de huevos embrionados de *T. canis* y *A. suum* en el dorso de animales previamente sensibilizados con antígeno de estos parásitos, efectuando las lecturas a las 4, 24 y 48 horas. Por su parte, KOMATSU *et al.* (1979) miden títulos de Ig E en sueros de ratones inmunizados con distintos antígenos de *A. suum* mediante anafilaxia cutánea pasiva en ratas, considerando reacción positiva cuando, después de 30 minutos de la inyección del antígeno, el diámetro de reacción es superior a 5 mm. Finalmente, SAXENA *et al.* (1983), estudian el efecto de dietil-carbamazina, inyectando 0'1 ml de una solución antigénica de *Ascaris* en animales previamente sensibilizados, estableciendo, en base a la

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

aplicación del citado antiparasitario, dos lotes (control y tratado con dietil-carbamazina). La reacción (en los no tratados) aparece a los 15-30 minutos, incrementándose hasta 1 hora y permaneciendo hasta 3 horas postinoculación. CHEN *et al.* (1990) utilizan la prueba de reacción intradérmica ante un antígeno obtenido a partir de un extracto bruto de *Ascaris suum* en oveja, resultando una inmediata reacción en el 90% de las ovejas analizadas.

La utilización de la técnica de radioinmunoensayo (RIA) como método de inmunodiagnóstico es utilizada por O'DONNELL y MITCHELL (1980). Estos autores, estudian los antígenos circulantes de *A. lumbricoides* en sueros humanos, procesando estos a la dilución 1:10. La técnica de RIA es, igualmente, usada con fines diagnósticos por TANAKA *et al.* (1983), los cuales utilizan un antígeno de *Ascaris* marcado con I^{125} . Del mismo modo, TOHGI *et al.* (1983) utilizan RIA para detectar Ac anti -*A. suum* en pacientes con ascariosis, para lo cual preparan extractos solubles de adultos de *T. canis* y *A. suum*. En esta misma línea, y mediante la técnica de RIA indirecto, RHODES y STAUDINGER (1983), estudian la respuesta inmune en cerdos inoculados con huevos embrionados de *A. suum*, utilizando un antígeno obtenido a partir de fluido perientérico de adultos de dicho parásito.

Respecto al serodiagnóstico por medio de la técnica ELISA, su puesta en marcha es relativamente reciente, y puede usarse perfectamente para realizar amplios estudios de prevalencia (BOGH *et al.*, 1994). A partir de 1981 pueden hallarse las primeras referencias a la técnica ELISA como método de diagnóstico de la ascariosis, cuando GRELCK *et al.* (1981) estudian reacciones cruzadas entre *T. canis* y *A. suum* en cerdos inoculados con huevos embrionados. Este estudio es realizado mediante una modificación de la técnica ELISA de CYPESS *et al.* (1977), que utiliza como antígeno un extracto de adultos y huevos a una concentración de 10 µg/ml. Los sueros se adsorben con 200 µg de proteína antigénica/ml a la dilución de 1:50 en PBS-Tw 20 al 0'2%, mientras que el sustrato utilizado es o-toluidina. Finalmente proceden a la lectura de la reacción a 620 nm de longitud de onda.

Posteriormente, HERSKOVIC y ASTORGA (1985) estudian la presencia de anticuerpos anti-Toxocara, mediante el método ELISA, usando antígeno de *T. canis*, realizando la adsorción con antígeno de *A. suum* y utilizando como sustrato el ácido 5-amino-salicílico (5AS).

ERIKSEN *et al.* (1992a,b) comprueban con esta técnica que existe una ligera correlación entre la tasa de anticuerpos y la presencia de punteado blanquecino en el hígado tras la necropsia de los animales estudiados. Por otro lado, utilizaron también la técnica ELISA para medir la respuesta de dos grupos de cerdos (uno libre de parásitos y otro expuesto a reinfecciones continuas por *A. suum*), inoculados oralmente con 50 huevos por kg de peso vivo. Ambos grupos fueron a su vez subdivididos según su edad en cerdos en período de crecimiento (hasta 25 kg), en fase de cebo (hasta 90 kg) y cerdas no preñadas con 2 años de edad. En la realización del test utilizan distintos tipos antigénicos: 2'5 µg/ml de ES-L2/L3, 2'4 µg/ml de huevos embrionados y 7'4 µg/ml de fluido corporal de adultos.

Pos su parte, LIND *et al.* (1993), estudian, mediante ELISA, la respuesta inmunitaria de cerdos infectados experimentalmente con huevos embrionados frente a antígenos obtenidos a partir de huevos embrionados, de los productos de secreción excreción larvarios (ES) y del fluido pseudocelómico. El tiempo de seroconversión fue esencialmente idéntico para los 3 antígenos. Encontraron que las respuestas más fuertes, con DO's más elevadas, se producían cuando las inoculaciones experimentales se realizaban con bajas dosis y de manera repetida. ROEPSTORFF (1997) explica este hecho diciendo que el antígeno específico L2/L3 estimula la producción sistémica de IgG por un corto período de tiempo durante el curso de una simple infección. En este trabajo, el valor de corte o cut-off de DO para los animales destetados se estableció en 0'093, tras haberse mostrado repetidamente libres de helmintos. La media de las DO's de las reproductoras y lechones fue de 0'182 y 0'131, respectivamente. En cuanto a los resultados, en tres explotaciones infectadas, la seroprevalencia obtenida en los cerdos de cebo fue del 97'8 %, y la DO media en ellos de 1'28, mientras que en reproductoras dichas cifras alcanzaron el 72'5 % y 0'76, respectivamente.

YOSHIHARA *et al.* (1993), usando como antígeno fluido pseudocelómico de hembras de *A. suum*, estandarizan un test ELISA, que muestra alguna reacción cruzada con sueros positivos a *Metastrongylus sp.*, pero sobre todo, mayor sensibilidad que el test de fijación de complemento. Tras la filtración de este Ag en Sephacryle s-300, observan cinco picos de proteínas siendo, mediante Western blotting, la más reactiva una de peso molecular cercano a 105 KDa.

En 1994, HILL *et al.* establecen por ELISA un seguimiento de la respuesta humoral en cerdos inmunizados con fragmentos cuticulares de L2, L3 y adultos, frente a la proteína 2-mercaptoetanol, comprobando, en todos los casos, una buena protección en cuanto a migración larvaria, si bien, esta protección no tiene una correlación con el nivel de anticuerpos. Los niveles más altos de extinción se observan con el antígeno cuticular de larvas de tercer estado. Coincidiendo en este sentido, URBAN *et al.* (1988) indican que los extractos del parásito tienen un efecto inmunoprotector, pero el desarrollo de la inmunidad intestinal que impide la migración parenteral de las larvas requiere una exposición crónica a la infección.

También en 1994, BOGH *et al.* evalúan un ELISA y un test de liberación de histamina como métodos para la detección de cerdos naturalmente infectados con *A. suum*. En ambos se utilizaron fluido corporal de adultos y antígeno ES-L2/L3. Con esta base analizan un total de 150 cerdos de 7 meses de edad y 90 kg de peso, procedentes de 23 granjas diferentes. Se investiga también el número de adultos en intestino delgado, recuento del número de huevos en heces y las "manchas de leche" en hígado. Cuando la presencia de "manchas de leche" fue igual o superior a tres, esta técnica ELISA, usando antígeno ES larvario, mostró una sensibilidad del 97 % y una especificidad del 89 %. Estos autores, denuncian, igualmente, que no existe correlación positiva entre la presencia de "manchas de leche" y presencia de adultos en intestino delgado. Este ELISA indirecto se realizó usando los mismos reactivos y el mismo procedimiento descrito por LIND *et al.* (1993). El cut-off se estableció sumando 5 veces la desviación estándar a la media de los controles negativos que correspondían a 7 sueros procedentes de cerdos libres de parásitos. Dicho valor fue de 0'203 y 0'384 para antígeno ES-L2/L3 y antígeno del fluido corporal de adultos, respectivamente. Concluyen estos autores, que la técnica ELISA puede ser muy valiosa para la realización de encuestas epidemiológicas en combinación con otros tipos de enfermedades para las cuales se extrae sangre a los cerdos de manera periódica y habitual. Además, la técnica ELISA puede usarse para declarar explotaciones como libres de *Ascaris suum*.

Por su parte, CUÉLLAR *et al.* (1995) utilizan la técnica ELISA, adsorbiendo las placas con antígenos obtenidos a partir de un extracto bruto de adultos y de productos de excreción-secreción (ES) de larvas, tanto de *A. suum*, como de *T. canis* y de *T. leonina*, con el fin de hacer un seguimiento

inmunológico y estudiar las reacciones cruzadas de una infección y una inmunización experimental realizada en ratones con extracto bruto de adultos homólogos y heterólogos. Estos autores comprueban que, en el caso de ratones infectados con huevos embrionados de *A. suum*, no existe reacción cruzada al enfrentar sus sueros con antígeno ES larvario de *T. canis* y *T. Leonina*, y en el caso de ratones inmunizados con extracto crudo de adultos de *A. suum*, tampoco existe reacción frente a antígeno ES larvario de *Toxocara canis* y *Toxascaris leonina*.

Igualmente, FURUYA *et al.* (1995) estudian el antígeno idóneo (a una concentración de 5 µg/ml) para el diagnóstico inmunoenzimático de la ascariosis. Plantean una disquisición entre antígeno de huevos embrionados, antígeno de extracto bruto larvario y antígeno de extracto bruto adulto. El antígeno procedente de extracto bruto larvario se muestra altamente sensible, al igual que el obtenido a partir de extracto bruto de hembras; por ello, debido a la mayor facilidad y ahorro económico en la obtención de este último, se elige finalmente como el antígeno idóneo para el inmunodiagnóstico. Posteriormente, y utilizando este antígeno en varias técnicas diagnósticas, el test inmunoenzimático ELISA obtuvo una mayor sensibilidad que las técnicas de fijación de complemento y el test de precipitación en gel de agar. Finalmente, estos autores observan una correlación positiva entre la densidad óptica de los sueros analizados por ELISA y la severidad de las "manchas de leche", consecuencia de la migración larvaria a través del tejido hepático.

Para investigar las infecciones naturales por *A. suum* en cerdos, ROEPSTORFF (1998) hace uso de métodos coprológicos y serológicos (ELISA). Encuentra huevos de *A. suum* en 15 de las 20 explotaciones muestreadas, mientras que por ELISA todas las explotaciones fueron positivas. Para el recuento de huevos emplea la técnica de Mc. Master, descrita por Roepstorff y Nansen (1998), considerando positivos aquellos recuentos iguales o superiores a 200 h/gr. Para la técnica ELISA usa un antígeno excretor-secretor L2/L3 a una concentración de 2'5 µg/ml. Considera positivos todos aquellos sueros con DO superior a la media más cinco veces la desviación estándar de los controles negativos. El Dr. Roepstorff denuncia un alto grado de correlación positiva entre los h/gr de *Ascaris suum* y la DO obtenida en ELISA en animales destetados (10 semanas de edad) y de cebo (5-6 meses de edad), no existiendo tal correlación para las reproductoras. Las seroprevalencias obtenidas (20'3 %, 50'5 %, 65'4 %) para

las diferentes categorías de edad, fueron sensiblemente más altas que las coprovalencias (4 %, 15'5 %, 7'4%). Finalmente, también publica una correlación positiva entre los niveles de anticuerpos y los valores de DO obtenidos. En los primeros 7 días de edad, los lechones adquieren niveles de DO similares a los de sus madres, valores que disminuyen al 50 % a las 3-6 semanas de edad.

En relación, igualmente, con el diagnóstico, PÉREZ-MARTÍN *et al.* (1999), en su estudio sobre la ascariosis en la cabaña porcina extremeña, analizan 350 cerdos ibéricos, encontrando que el 48'75 % de los cerdos mostraron adultos en intestino delgado. Por coprología, el 43'9 % fueron falsos positivos y el 28'2 % falsos negativos. El 100 % de los animales fueron positivos a ELISA frente a los antígenos esofágico, cuticular y ovárico, el 92'3 % frente al obtenido de líquido pseudocelómico, y el 89'74 % frente al uterino y ES de adultos. No hubo correlación entre el número de individuos en el intestino y el número de huevos en heces, respecto los niveles de IgG en suero. Remarcan estos autores, que incluso la DO, obtenida por ELISA, en las muestras de cerdos con formas parasitarias infectantes fue menor que la obtenida en el resto de animales. Concluyen estos autores que la cabaña porcina extremeña presenta un elevadísimo nivel de parasitación por *A. suum*. Del mismo modo, debido a la discordancia entre los resultados obtenidos por métodos diagnósticos directos e indirectos, parece inferirse un efecto inmunosupresor del parásito que permite su alojamiento junto a una reducción del nivel de anticuerpos.

Por último, en cuanto a la aplicación de la técnica ELISA en el diagnóstico de la ascariosis humana, son muchas las referencias existentes, y solamente citaremos algunas de ellas como la de RIERA y PORTUS (1988), quienes ensayan un ELISA para el diagnóstico de la toxocarosis humana, utilizando antígeno ES de L2 de *Toxocara canis*. Consideran negativos los sueros con un porcentaje de positividad inferior a la media más dos veces la desviación estándar de la población negativa. Son positivos aquellos con un porcentaje superior a la media más 4 veces la desviación estándar. Consideran dudosos, los sueros con valores comprendidos entre ambos.

También, HASWELL-ELKINS *et al.* (1992), utilizando antígeno excretor-secretor larvario de *A. suum*, analizan los sueros de 124 personas naturalmente expuestas a la acción de *A. lumbricoides*, observando que los

niveles séricos de anticuerpos reflejan una reciente exposición al parásito, estableciendo además que el número de parásitos adultos es proporcional al de larvas que recientemente han migrado a través de pulmones. Demuestran también que los niveles de respuesta tienden a disminuir con el paso del tiempo y con la edad, siempre que se suponga que se mejoran las condiciones de higiene y se disminuya el contacto con el parásito. Los niveles de anticuerpos fueron máximos en niños de 5-9 años de edad, declinando conforme aumentaba la edad, como consecuencia del menor contacto con el parásito por motivos de higiene, fundamentalmente.

2.3. - SOBRE EL ANIMAL.

En la ganadería española, entre las distintas especies y razas autóctonas, destaca como uno de sus principales exponentes el ganado de cerda de raza ibérica.

El presente epígrafe no pretende hacer un estudio exhaustivo de las características de este animal, ya que existen numerosos trabajos científicos donde el cerdo ibérico es abordado con todo lujo de detalles. Sin embargo, pensamos que es necesario tratar aquí, aunque sea de forma somera, y recogiendo las aportaciones de los distintos autores, ciertos aspectos, sobre todo, los relacionados con las cuestiones epidemiológicas, que pudieran ser interesantes a la hora de abordar los resultados obtenidos sobre la parasitación que *Ascaris suum* protagoniza en porcinos criados en régimen extensivo en Extremadura.

Para abordar los distintos planteamientos epidemiológicos que nos puedan surgir, creemos que es necesario definir una serie de términos en los cuales se basa este estudio. Por ello, sabiendo que nuestro estudio se centra en cerdos criados en extensividad en la Comunidad Autónoma de Extremadura, es necesario saber qué entendemos por extensividad, y qué tipos de cerdos son los que vamos a encontrar en la región. Ambas cuestiones quedan recogidas en el DECRETO 158/1999, por el que se establece la regulación zootécnico-sanitaria de las explotaciones porcinas en la C.A. de Extremadura.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Así, define al **animal del tronco ibérico**, como animal de la especie porcina de raza ibérica en pureza o sus cruces industriales con la raza Duroc y/o Duroc-Jersey. Del mismo modo, dentro del art. 4º, las explotaciones se clasifican según su orientación zootécnica, capacidad productiva y por el **régimen de explotación**, según el cual, las podemos subdividir en:

Extensivas: aquellas cuyos sistemas de producción porcina cuentan con recursos naturales adecuados para su aprovechamiento por el cerdo, fundamentalmente en régimen de pastoreo en áreas del ecosistema de dehesa y organizado racionalmente. Se incluye en este grupo las explotaciones de cebo en montanera.

La explotación extensiva debe contar con una base territorial mínima y en la que la especie porcina constituya la carga ganadera suficientemente representativa durante todo el año. La base territorial mínima irá en consonancia con la carga ganadera, no entendiéndose como extensivas aquellas explotaciones que superen los 15 cerdos por ha. Las explotaciones extensivas estarán cercadas perimetralmente, de tal manera que se impida el acceso de otros animales domésticos o salvajes.

Intensivas: aquellas en las que el ganado porcino está alojado en las mismas instalaciones en las que se suministra la alimentación, fundamentalmente a partir de piensos compuestos, incluso aquellas que cumpliendo lo anterior, usen la modalidad de cría al aire libre con el denominado "sistema camping".

Mixtas: son el resultado de la coexistencia del régimen de explotación extensivo e intensivo.

Comunales o benéficas: aquellas administradas por Ayuntamientos, Sociedades Benéficas o similares, precisando, por su propia naturaleza, una ordenación específica en su sistema de manejo.

Así pues, en este contexto, nos parece interesante, después de consultar la bibliografía especializada, desarrollar los temas referentes a su localización, estirpes, ecosistema donde se desenvuelve, censos y sistemas de explotación.

2.3.1.- Localización.

Según BERMEJO (1992, 1995), esta raza esta localizada en un territorio comprendido entre el Macizo Central de la Península Ibérica y la depresión

del Guadalquivir, agrupando actualmente a las regiones de Castilla-León (con una superficie de 174.000 ha, al sudoeste de la misma), Extremadura (con 1 millón de ha), oeste de Castilla-La Mancha (316.000 ha), Andalucía occidental (732.000 ha) y las regiones portuguesas de Algarve y Alentejo (1 millón de ha). Dichas superficies, a lo largo del presente siglo han tenido tendencia a disminuir, debido a varios factores, pero, sobre todo, principalmente por el furor arborícola del hombre.

RUIZ ABAD y PAZ SÁEZ (1995) como observación apuntan que, siendo su censo escasamente el 4 % del total de la producción porcina nacional, solamente por su ubicación geográfica, tiene una importancia singular. Para ellos, el cerdo ibérico se sitúa en una amplia zona tradicionalmente deprimida, constituida por una banda vertical de la península en sentido norte-sur, que va desde el sur de Zamora hasta el norte de Huelva, y con prolongaciones hacia el centro.

Para DIÉGUEZ (1992), esta especial raza se localiza en las áreas próximas al litoral, desplazándose al suroeste y ocupando aquellas zonas en las que predominan, como masa arbórea, las encinas, alcornoques, castaños y algarrobos. Son las regiones de Andalucía Occidental, Extremadura y Salamanca en España, así como el Algarve y Alentejo portugués. En la actualidad, la cría del cerdo ibérico, sigue ligada a las regiones del sudoeste español, correspondiente al Oeste de una línea imaginaria trazada desde Almería hasta Zamora, y con arreglo a la distribución mostrada en la Tabla 1.

Tabla 1. Distribución del porcino ibérico español según provincias.	
PROVINCIA	%
Badajoz	40
Cáceres	10
Córdoba	12
Sevilla	10
Huelva	8
Cádiz	7
Salamanca	7
Málaga	3
Otras: Ávila, Segovia, Toledo y C. Real	3

Sin embargo, podemos decir que la localización del cerdo ibérico está en la actualidad prácticamente circunscrita al área ocupada por la dehesa arbolada. Para BENITO *et al.* (1997), dentro de esta distribución, existen zonas principalmente productoras y otras dedicadas fundamentalmente a la transformación y elaboración, tanto de productos frescos como curados. La mayor parte de la producción ganadera coincide con las áreas de una elevada densidad de encinas y alcornoques. Así, en la región extremeña se sitúa el 50 % del total de la producción, con un 8, 12 y 10 % en las provincias de Huelva, Córdoba y Sevilla respectivamente.

Zonas donde existe una concentración de las industrias elaboradoras y con gran tradición en la elaboración artesanal de los productos del cerdo ibérico, son fundamentalmente los términos municipales de Guijuelo, Ledrada y Candelario en la provincia de Salamanca; Piornal y Montánchez en Cáceres; Jerez de los Caballeros, Fregenal de la Sierra, Monesterio y Olivenza en Badajoz; Cumbres Mayores, Jabugo y Cortegana en Huelva; asimismo, existe elaboración importante en algunas poblaciones de Castilla-La Mancha, principalmente en la provincia de Toledo.

2.3.2. - La dehesa como ecosistema.

La dehesa es un ecosistema característico del sudoeste de la Península Ibérica, en el cual coexisten encinas, alcornoques y pastizales (gramíneas y leguminosas, fundamentalmente). Entre las gramíneas, son predominantes los géneros *Lolium*, *Hordeum* y *Poa*, entre otros. Por su parte, las leguminosas más frecuentes pertenecen a los géneros *Trifolium*, *Medicago* y *Ornithopus*.

Se trata de una explotación modélica, que armoniza el respeto por un ecosistema natural con su aprovechamiento, obteniendo de él la máxima rentabilidad productiva.

En relación con las definiciones realizadas para el término "dehesa", PAZ SÁEZ *et al.* (1995) prefieren la acepción que refiere al bosque aclarado o hueco, que puede tener rotativos usos agrícolas y ganaderos. Por antonomasia, se da el nombre de "dehesa" al bosque mediterráneo, aclarado, con dominio arbóreo de los *Quercus* (encinas, alcornoques y en menor medida quejigos y rebollos).

En el campo de la biología se identifica el concepto "dehesa" con el bosque mediterráneo y sus sucesivas etapas de degradación por intervención antrópica del bosque clímax. La propia Ley de la Dehesa de Extremadura recoge bajo su denominación al conjunto de fincas rústicas de Extremadura, tanto arboladas como desarboladas, con superficies superiores a cien hectáreas, que sean susceptibles de un aprovechamiento ganadero. Básicamente, las producciones ganaderas se complementan con aprovechamientos agrícolas y forestales, los cuales, en un alto porcentaje, son reemplazados en la alimentación del ganado.

En Extremadura, la dehesa presenta un clima mediterráneo semiárido, de inviernos frescos y templados y veranos extraordinariamente secos, con temperaturas medias anuales entre 14 y 18°C, con mínimas absolutas entre -3 y -8°C (en invierno) y 40-42°C (en verano). Las precipitaciones son estacionales e irregulares, con medias en torno a los 600 mm (400-800) por año (BERMEJO, 1992).

PENCO (1995) describe como año climatológico extremeño, el caracterizado por inviernos no excesivamente fríos y lluvias relativamente frecuentes; a este invierno, no muy largo, le sucede una primavera temprana, con temperaturas suaves y con la humedad suficiente para que se produzca una verdadera explosión de vida, tanto vegetal como animal, no siendo raras las tormentas aisladas.

Este tipo de ecosistema, proporciona una serie de recursos naturales que el cerdo ibérico aprovecha con la máxima eficacia. Para DIÉGUEZ (1992), esos recursos naturales son:

- La hierba o pasto (natural o mejorado), que le proporciona raciones de mantenimiento durante la primavera, y que es esencial como complemento de la alimentación en régimen de montanera.
- Los rastrojos o aprovechamiento de los espigaderos, recurso muy importante hace años en el manejo de cerdo ibérico, en el que una piara de 120-150 cabezas (en 200 fanegas), reponía de 2 a 3 arrobas (23 - 34'5 kg.), con un sistema de introducción durante 30 minutos en los barbechos de habas o garbanzos y a continuación en el espigadero de cereal.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

- La bellota, fruto de las Quercíneas, (*Quercus ilex* o encina, *Quercus suber* o alcornoque y en muchísima menor proporción *Quercus lusitánica* o quejigo), madura desde los meses de noviembre a febrero según la climatología propia de cada año. La superficie de encinar y alcornocal en España se estima 2.360.700 ha, de las que 2.039.563 ha son de encinares y 321.137 de alcornocal (Anuario de Estadística Agraria, 1974). La densidad del arbolado oscila entre 20 y 50 árboles/ha, aunque en algunas zonas se llega a 80-100 árboles/ha. Se estima que existe una media de 40 a 50 pies por ha, y de 18 a 25 kg. de bellota por árbol, lo que en definitiva permite una densidad de 1'5 a 2 cabezas porcinas por ha. En condiciones climatológicas normales, y puestas todas las has. en producción, podrían albergar como máximo entre 2'5 y 3'5 millones de cabezas en el mejor de los casos. Sin embargo, BENITO et al. (1997) confirman que la producción de bellotas en la dehesa es muy variable, oscilando entre 300-1000 kg/ha y 7-8 kg/árbol. No obstante, en un muestreo realizado en 1989 y 1990 sobre el arbolado de toda la geografía extremeña, se denuncia una densidad media de 35'3 árboles/ha, una producción media por árbol de 14'8 kg y una reposición en carne de 12'8 kg de bellota/kg de carne. Finalmente, conviene señalar que durante los años de la postguerra civil española, debido fundamentalmente a los altos precios alcanzados por el carbón y la leña procedente de las encinas, así como por el aumento de la superficie cerealista, se produjo, desgraciadamente, el arranque masivo de encinas.

Según el Inventario Forestal Nacional de 1977, en toda la zona adehesada española existen 2.273.000 hectáreas de encinas y alcornoques, cuya distribución en la región extremeña se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Distribución de encinares y alcornocales en la región extremeña (Has.).			
Provincia	Encinares	Alcornocales	Total
Badajoz	473.000	72.000	545.000
Cáceres	359.000	70.000	429.000
Extremadura	832.000	142.000	974.000

Las diferencias de producción entre árboles de una misma dehesa, o que integran una misma masa forestal, son reconocidas por la generalidad de los autores. Según LAGUNA (1998), la intervención de un gran número de

variables en la producción de bellota, explica las notables diferencias expresadas por diversos autores, desde los 191-238 Kg/Ha/año, que denuncian Campos Palacín, hasta los 936 Kg/Ha/año publicado por Medina Blanco, ambos citados por LAGUNA (1988).

Finalmente, la cantidad de bellota que consumen los cerdos en montanera es otra cuestión objeto de múltiples opiniones. A este respecto LAGUNA (1998) comenta que se admite, con carácter general, que el consumo medio diario oscila de 8 a 10 kg de fruto por cada 100 kg de peso vivo. DE JUANA (1954), por su parte, observa que el consumo es mayor conforme aumenta el peso vivo de los cerdos en montanera, estimándolo en 6-7 kg para los animales de 50-70 kg, de 8 kg para los de 80-90 kg, y de 9 kg para los que pesan de 100 kg en adelante.

2.3.3.- Censos y estructuras de la explotaciones.

La elaboración de censos de la cabaña porcina en régimen extensivo ha sido abordada en numerosas ocasiones, tanto por entes públicos como privados, existiendo generalmente poca credibilidad en las cifras aportadas, debido a la dificultad que ocasiona el carácter de extensividad y la existencia de pequeñas piaras muy diseminadas y con variables de cruzamiento difíciles de clasificar. En la última década, debido a la intensificación de la lucha contra la Peste Porcina Africana, la regularización y el registro obligatorio de las explotaciones porcinas, ha colaborado, en buena medida, a una mejor situación censal.

Tabla 3. Censos de porcino ibérico según zonas productoras (Penco, 1995) a) Total de Animales.		
COMUNIDAD AUTÓNOMA	Nº DE ANIMALES	PORCENTAJE
Andalucía	383.000	40.75
Castilla-La Mancha	8.000	0.85
Castilla-León	59.000	6.28
Extremadura	490.000	52.12
TOTAL	940.000	100.00

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Respecto a la evolución del censo de reproductores ibéricos, entre los años 55 y 86 se constata un incremento considerable de razas extranjeras en el panorama porcino español, representando en 1970 cerca del 90 % de los efectivos. Según DIÉGUEZ (1992) es evidente la desaparición de las razas Chata Murciana y Chata Vitoriana. Además, en el período 1955-1982, el censo de reproductoras se redujo al 10 %, y las reproductoras ibéricas pasaron de representar casi un 40 % del total, a un escaso 4 %.

En esa evolución de los censos de cerdo ibérico, PENCO (1995) observa que tras el citado descenso se observa una recuperación desde 1970 hasta el momento presente. La Tabla 3 recoge, según este autor, los censos porcinos en las principales zonas productivas.

Tabla 3. Censos de porcino ibérico según zonas productoras (Penco, 1995). b) Porcentaje de Reproductoras.	
PROVINCIA	% REPRODUCTORAS IBÉRICAS
Badajoz	40
Cáceres	10
Cádiz	7
Córdoba	12
Huelva	8
Málaga	3
Salamanca	7
Sevilla	12
Otras provincias	1
TOTAL	100

PENCO (1995) cita los resultados obtenidos por la Comisión Interprofesional del Cerdo Ibérico en 1990. Considerando como ibérico a todo animal poseedor un mínimo genético del 50 % de esta raza. (Tabla 4):

Tabla 4. Censo global porcino ibérico según edad y funcionalidad	
REPRODUCTORAS	86.000
Menos de 30 kg.	270.000
De 30 a 90 kg.	510.000
más de 90 kg.	75.000
TOTAL	941.000

La mencionada evolución del censo porcino en el territorio extremeño, en el período 1990-1994 se expone en la Tabla 5.

Tabla 5. Evolución del porcino ibérico en Extremadura (1990-1994).			
Año	Badajoz	Cáceres	Extremadura
1990	721.541	245.577	967.118
1991	805.671	224.523	1.030.194
1992	851.606	274.729	1.126.335
1993	848.082	142.380	990.462
1994	872.277	106.823	979.100

En cuanto a la distribución de hembras por provincias (Tabla 6), Badajoz reúne el mayor número, tanto del tronco ibérico (76.995), como de animales de capa blanca (8.555), frente a 17.820 y 2.430 de Cáceres, respectivamente.

Tabla 6. Evolución censal de hembras porcinas en Extremadura (1990-1994).									
Años	BADAJOZ			CÁCERES			EXTREMADURA		
	Total hembras	Tronco blanco	Tronco ibérico	Total hembras	Tronco blanco	Tronco ibérico	Total hembras	Tronco blanco	Tronco ibérico
1990	76.097	8.751	67.346	24.445	3.424	21.031	100.552	12.175	88.377
1994	85.550	8.555	76.995	20.250	2.826	17.820	105.800	10.985	94.815

Tomando como fuente el censo elaborado por la Asociación Española de Criadores del Cerdo Ibérico - AECERIBER (1990) es de destacar el elevado número de reproductoras cruzadas, fundamentalmente al 50 % con la raza Duroc Jersey americana (Tabla 7).

Tabla 7. Censo cronológico comparativo de cerdas de vientre en Extremadura.

Años	Cerdas ibéricas	Cerdas cruzadas de ibérico*	Totales
1955	567.424		567.424
1970	97.658		97.658
1978	64.082		64.082
1982	53.541		53.541
1986	71.994		71.994
1988	32.882	64.704	97.586
1993	59.700	43.900	103.600

* En los censos oficiales y hasta 1986 se incluían conjuntamente las madres ibéricas y cruzadas.

En cuanto al censo de los animales de cebo, según un estudio realizado por ESPÁRRAGO *et al.* (1993), se concluye que, sólo en Extremadura, se engordan un total de 676.000 cerdos ibéricos (el 50 % del total nacional), de los cuales aproximadamente la mitad, 343.000, se finalizan a base de piensos concentrados, cifrándose en 330.000 los animales de montanera.

Según datos de la Secretaría General Técnica de la Consejería de Agricultura y Medio Ambiente de la Junta de Extremadura (1998), y teniendo en cuenta que el 95 % corresponde al ibérico y sus cruces, el censo de reproductoras extremeñas alcanza la cifra de 103.500 individuos, de los que sólo 20.600 se ubican en la provincia de Cáceres, mientras que 82.900 se sitúan en Badajoz.

La Tabla 8 (a y b) muestra la evolución del porcino ibérico en Extremadura, según la Consejería de Agricultura de la Junta de Extremadura (1998).

Tabla 8. Evolución censo porcino ibérico. a) Animales según edad y funcionalidad.

AÑO	BADAJOZ		CÁCERES	
	Reproductores	Cebo	Reproductores	Cebo
1993	89.996	864.761	20.825	197.904
1994	82.234	445.552	19.836	109.654
1995	74.715	533.034	20.739	140.883
1996	76.491	385.058	20.727	109.095
1997	73.772	499.901	15.810	101.512

Tabla 8. Evolución censo porcino ibérico. b) Explotaciones según provincias.

AÑOS	BADAJOS	CÁCERES	EXTREMADURA
1993	25.097	13.868	38.965
1994	21.445	14.019	35.460
1995	21.887	14.374	36.261
1996	21.606	14.747	36.353

En lo que respecta a las explotaciones industriales, la Tabla 9 muestra que en Badajoz, existen 5.160 empresas, lo que supone el 23'35%, mientras que en Cáceres, las 894 explotaciones, suponen sólo el 5'8% del total (Consejería de Agricultura de la Junta de Extremadura, 1998).

Tabla 9. Tipos de explotaciones según provincias.

BADAJOS		CÁCERES	
FAMILIARES*	INDUSTRIALES	FAMILIARES*	INDUSTRIALES
16.938	5.160	14.423	894

* Se consideran explotaciones familiares aquellas con una capacidad máxima de 5 reproductoras y 25 animales de cebo. Las explotaciones industriales necesitan el correspondiente Registro de Explotación.

Según los datos aportados en junio de 1995 por el Servicio del Registro de Explotaciones y Gestión Integrada de Ayudas de la Consejería de Agricultura de la Junta de Extremadura, incluyendo las razas blancas (Duroc-Jersey, Large White, Large-Black, Landrace, principalmente), los censos extremeños según comarcas se muestran en la Tabla 10.

Más en detalle, la Tabla 11 muestra el censo elaborado por el Servicio de Sanidad Animal de la Consejería de Agricultura y Medio Ambiente de la Junta de Extremadura (1996-98). Dicho Censo se realiza partiendo de la información facilitada por la Oficinas Veterinarias de Zona (OVZ), que no se corresponde exactamente con las comarcas agrarias extremeñas.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA
Tabla 10. Censos porcinos extremeños por comarcas (número de individuos).

BADAJOZ		CÁCERES	
Alburquerque	26.116	Cáceres	26.828
Mérida	23.770	Trujillo	10.500
D. Benito	7.299	Brozas	2.586
Puebla de Alcocer	2.105	Valencia Alcántara	17.182
Herrera del Duque	469	Logrosán	3.729
Badajoz	38.466	Navalmoral	7.041
Almendralejo	48.180	Jaraiz	560
Castuera	22.072	Plasencia	6.593
Olivenza	39.959	Hervás	2.261
Jerez Caballeros	116.258	Coria	13.642
Llerena	68.057		
Azuaga	37.415		
TOTAL	430.216		91.322

Tabla 11. Censos según funcionalidad y zonas geográficas (OVZ)

O.V.Z	Reproductoras	Verracos	Cebo	Recrio	Lechones
Azuaga	7.002	699	17.505	21.056	11.273
Badajoz	14.046	2.118	48.292	15.079	41.482
Castuera	3.960	402	9.593	12.879	7.419
Don Benito	1.267	142	5.449	4.290	1.620
Herrera del Duque	858	110	2.280	2.437	5.004
Jerez Caballeros	12.220	1.420	60.937	37.724	28.883
Mérida	10.275	775	28.250	11.000	19.500
Zafra	19.340	1.857	62.325	45.962	30.841
Cáceres	3.728	463	14.150	10.411	6.159
Coria	2.870	193	12.850	8.225	-
Logrosán-Zorita	724	153	1.052	-	2.738
Navalmoral Mata	2.084	81	12.215	6.947	1.852
Plasencia	3.479	473	5.362	5.017	3.786
Valencia Alcántara	4.256	336	23.623	1.424	12.967
Trujillo	1.648	239	6.626	1.193	3.259
BADAJOZ	68.968	7.523	23.4631	150.427	146.022
CÁCERES	18.789	1.938	75.878	33.217	30.761
EXTREMADURA	87.757	9.461	310.509	183.644	176.783

Finalmente, ESPÁRRAGO *et al.* (1999), a modo de resumen ofrecen datos más recientes en relación a la evolución del censo porcino ibérico en Extremadura (Fig. 12).

Tabla 12. Evolución del censo ibérico extremeño. a) Hembras (1986-1999).

AÑO	IBÉRICAS	CRUZADAS	TOTAL
1986 (1)	32.361	13.417	45.778
1988 (2)	24.466	45.822	70.288
1990 (2)	24.000	46.000	70.000
1992 (3)	-----	-----	80.939
1993 (4) (5)	59.700	43.900	103.600
1995 (2) (5)	71.163	35.706	106.869
1996 (5) (6)	48.000	32.000	80.000
1998 (5) (7)	70.000	45.000	115.000

(1) Anuarios MAPA. (2) AECERIBER. (3) "La Agricultura y Ganadería Extremeñas en 1992" y Alimarket 49. (4) "La Agricultura y Ganadería Extremeñas en 1993". (5) Se incluyen renuevos y vacías. (6) AECERIBER 1996. (7) Extrapolación sobre censos APA AECERIBER.

Tabla 12. Evolución del censo ibérico extremeño. b) Machos (1986-1999).

CAMPAÑA	MONTANERA	PIENSO	TOTAL
1986/87	175.000	154.000	329.000
1988/89	220.000	297.000	517.000
1990/91	275.000	283.000	558.000
1993/94	333.000	343.000	676.000
1995/96	200.000	407.000	607.000
1996/97	233.000	313.000	546.000
1997/98	185.000	450.000	635.000
1998/99	360.000	500.000	860.000

2.3.4. - Estirpes.

Todos los autores parecen estar de acuerdo en considerar que el cerdo ibérico es una sola raza, a la que se ha denominado "Tronco Ibérico". No obstante, las características morfológicas no son comunes a todos los animales, por lo que se han considerado distintas variedades dentro del conjunto racial, que según BENITO *et al.* (1997) son las siguientes:

Variedades COLORADAS: Colorada o Retinta (española y portuguesa), donde también puede incluirse la estirpe Torbisca, resultado de la fusión de 4 estirpes ancestrales: dos negras lampiñas extremeñas, una colorada portuguesa y otra rubia alentejana. Esta variedad es hoy día la más abundante en la población de cerdo ibérico y recibe diversos nombres: colorada extremeña, oliventina o retinto mejorado.

Variedades RUBIAS: Rubia Andaluza o Campiñesa, Dorado Gaditano y Dorado Alentejano.

Variedades NEGRAS: Negro Lampiño y Negro Entrepelado. Respecto a la variedad negra lampiña, se conocen dos núcleos representativos de las antiguas poblaciones: el denominado pelón guadianés, originario de las Vegas del Guadiana, y el lampiño de la Serena, mientras que no existen ejemplares de negro entrepelado.

Variedad Manchada de Jabugo es una variedad del Tronco Ibérico que procede de cruces con razas inglesas, fundamentalmente Berkshir y Large White. Actualmente, existen escasos representantes al norte de la provincia de Huelva, siendo por tanto una variedad prácticamente desaparecida.

Independientemente de las estirpes, merecen especial mención dos piaras de propiedad pública, que constituyen por sí mismas unas reservas de pureza racial. Una de ella es la "Línea Valdesequera", encuadrada dentro de la retinta extremeña, propiedad de la Junta de Extremadura, y la otra es "El Dehesón del Encinar", propiedad de la Junta de Castilla-La Mancha, la cual posee dos tipos de animales: el negro lampiño del tipo pelón guadianés (denominado Guadyervas) y el Torbiscal.

2.3.5.- Sistemas de explotación.

Desde el comienzo de su historia el desenvolvimiento del cerdo ibérico se ha distinguido por su manejo mediante un sistema extensivo; dicho sistema se caracteriza porque la alimentación depende, básicamente, del aprovechamiento de los recursos naturales disponibles en su área de producción, así como por la larga duración de las fases componentes de su ciclo productivo (LAGUNA, 1998).

Los diferentes períodos que se pueden considerar en el proceso de explotación del cerdo ibérico, están íntimamente ligados con los productos y subproductos suministrados por la dehesa. El manejo de la explotación comprende, según DIÉGUEZ (1992), las fases de cría, recría y cebo.

2.3.5.1.- Cría.

La hembra reproductora alcanza su pubertad a los 8-10 meses, momento en el que son cubiertas, generalmente utilizando el sistema de monta natural, en la proporción de 10 hembras por verraco. Suelen tener una vida útil de 4 ó 5 años, momento en el que se procede a la castración y venta, o castración y cebo.

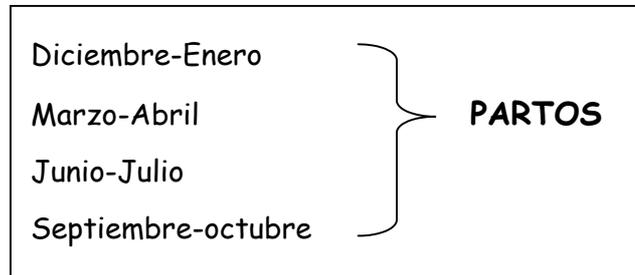
Existen básicamente tres modalidades de cría del cerdo ibérico:

- a) Sistema camping, similar al semiextensivo de origen inglés, utilizando cabañas de chapa galvanizada, dispuestas en cercas con 10 cabañas por ha.
- b) Sistema Funcional con alojamientos de obra, tipo "boxes", diseñados en el interior de una nave y pequeños corrales al exterior para recreo de los lechones nacidos.

En ambos sistemas, las hembras reproductoras están dispuestas en dos "barajas" o piaras, que alternan cubriciones y partos a lo largo del año. La época de partos determina el destino de la cría nacida. Cada tres meses, aproximadamente, tiene lugar una paridera, tendiendo a

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

concentrar tres de ellas buscando su destino final de acabado en Montanera.



De este modo, surgen los tradicionales lechones navideños o yerbizos, agostones y marceños, denominación correspondiente a su época de destete, que es, en ocasiones, conservada según la estructura y manejo propios de cada productor. El objetivo principal es que las parideras y destetes se alejen de las épocas calurosas por los problemas que ocasionan, tanto en los partos, como en la cría.

- c) Sistema Moderno con estabulación permanente de las reproductoras, utilización de la práctica de inseminación artificial, destetes precoces, etc., lo que se asemeja al sistema de producción del cerdo blanco. El destete se suele realizar, como edad media, a los 45 días, cuando los animales oscilan entre los 13 y 16 kg, compaginando la lactación con el inicio de la alimentación en comedero, sobre la base de piensos compuestos. A partir de este momento el lechón se alimenta exclusivamente de pienso y transcurridos 30 ó 45 días alcanza 23 kg, dos arrobas ó 50 libras, peso apto para su venta y el inicio de la fase de recría.

2.3.5.2.- Recría.

Es la época de transición entre el lechón de 2 arrobas y el comienzo del cebo, a través de las fases "marrano" y "primal". El productor es consciente de que el período de lechón a marrano debe completarse sin penurias para el animal (entre 2 meses, 16 kg y 5 meses, 50 kg).

A partir de este momento y hasta las 9 arrobas, o primal, una ración de mantenimiento es necesaria para el estiramiento del animal y desarrollo del esqueleto, correspondiendo al denominado "entipao" o recogido de vientre, que además durante la recría se somete a un régimen extensivo, desarrollando el hábito de localizar parte de su sustento en el campo, ejercitando su musculatura. Así a finales de octubre, tendrán un peso de 7'5 arrobas (85 a 100 kg) con lo que en un período mínimo de 8 meses y máximo de 18 meses, experimentarán una reposición de 7 arrobas o 70 kg.

2.3.5.3.- Cebo.

Respecto al cebo o "acabado", las explotaciones actuales llevan a cabo dos posibles sistemas de cebo:

a) Cebo en montanera.

a.1) Cebo completo. Es la forma más tradicional y confiere la más alta calidad futura a los productos elaborados. Comienza su aprovechamiento a finales de octubre y puede durar hasta el mes de febrero, o algo más en el caso de los alcornos. Los animales, dispuestos en "piaras" o "varas", con pesos entre 7'5 y 9 arrobas, van acompañados, en ocasiones, de personas denominadas "vareadores", que racionalizan el aprovechamiento de la montanera, recorriendo primero las zonas más escarpadas y consiguiendo con el vareo del árbol, la caída del fruto y su consumo inmediato. Cuando no existe la figura del "vareador", también denominado "careador", ya que va guiando el ganado por las distintas zonas en pro de su cometido, el propietario dispone de cercados pequeños que le permiten racionalizar el aprovechamiento de su montanera. En condiciones normales y dependiendo de la benignidad climatológica, el animal puede reponer hasta 1 kg diario, incrementando su peso de entrada, de 4 a 7 arrobas, hasta las 16 arrobas (160-180 kg).

a.2) Cebo incompleto.

Surge cuando la producción de la dehesa se ve recortada por condiciones climatológicas adversas. Su reposición alcanza el 50 % del "Cebo completo", esto es, entre 2 y 3 arrobas, no siendo suficiente para el cebo o acabado. A partir de entonces, el cebo se completa suministrando

raciones de piensos compuestos, que corresponde al "recebo" propiamente dicho, hasta reponer 1-2 arrobas más.

b) Cebo con alimentación en comedero.

Se utiliza en aquellos animales, que por su época de nacimiento y tipo de cruzamiento, no se destinan a un cebo en montanera.

En estas granjas, los animales tienen un 50 ó 75 % de sangre ibérica, y desde su destete se mantienen recluidos en naves, que a lo sumo disponen de pequeños corrales al exterior con suelo de hormigón, hasta hacerse primales, momento en que se ceban de forma intensa proporcionándoles una alimentación *ad libitum*. En este caso el ciclo productivo es más rápido y se completa en 10 meses o menos. Surgen también los problemas de aplomo y deterioro en la composición muscular, por lo cual aparece la modalidad "semi-extensivo", en la que se dan dos variantes:

- Una de ellas podía estar protagonizada por el mantenimiento de los animales en corrales de tierra, donde se les suministra alimento y agua de bebida sin inconveniente alguno para los cerdos, garantizando unas concentraciones de 25 cabezas por ha.

- En la otra variante, la distribución del pienso compuesto y el agua, están separadas suficientemente, obligando al animal a realizar un determinado ejercicio, lo que redundará en una calidad algo mayor de los productos

Como resumen del ciclo productivo y su cronología, RUIZ (1993) determina que el ciclo productivo tradicional tenía una duración de 18 meses aproximadamente, divididos de la siguiente forma: 2 meses de cría que acaban con el destete; 12-13 meses de recria; y 3 meses de cebo en montanera.

Por su parte, BENITO *et al.* (1997) añade al ciclo productivo una fase más que denomina "premontanera", que comienza en el mes de julio, coincidiendo con el agostamiento de los pastos primaverales. El objetivo fundamental es llevar los animales desde los 60 a los 100 kg, con un óptimo desarrollo corporal. La reposición es más provechosa si en la explotación

existen rastrojeras. De no ser así, los animales se confinan en cercados de 30-40 ha, donde se les suministra un pienso equilibrado, en una cantidad de 1'5-2'5 kg/cerdo y día.

ESCRIBANO y PULIDO (1998) observan que en los sistemas de dehesas actuales, puede encontrarse simultaneidad de fases en una misma explotación, o bien pueden encontrarse explotaciones que practican sólo periodos de cría, o de recría y montanera. Existen también explotaciones con reproductores de ciclo único, donde parte de los efectivos destinados al cebo ejercen ocasionalmente como reproductores, proporcionando una camada, cuyos individuos ejercerán como reproductores antes de la montanera siguiente. En estos casos, la temprana edad de los reproductores comporta un importante descenso en la fertilidad y prolificidad de la camada. Difiere fundamentalmente de los sistemas clásicos en que el período de vida útil del animal es reducido a 18 meses; de esta forma, las hembras reproductoras tienen una paridera entre los meses de julio y septiembre. Dichas hembras, junto con los machos (reproductores) son posteriormente castrados en el mes de noviembre para entrar en montanera. Un número determinado de estas crías, las más avanzadas fisiológicamente o las más adecuadas para la explotación, son cubiertas aproximadamente en el mes de marzo, repitiéndose así el ciclo.

Finalmente, nos ha parecido interesante, abordar, como *addendum* a este capítulo, los criterios de calificación que utiliza la Denominación de Origen "Dehesa de Extremadura", para la elaboración de sus productos, la cual únicamente admite animales ibéricos puros, o bien cruzados, pero manteniendo al menos el 75 % de sangre ibérica. Estos tipos de productos y los criterios que los clasifican son:

Cerdo de bellota: Aquél, que teniendo un peso de entrada en montanera comprendido entre 80 y 105 kg, repone en este régimen, como mínimo el 60-65 % de su peso de entrada, según sea ibérico puro o cruzado con el 75 % de ibérico, respectivamente. Estos pesos se determinan como la media de las partidas.

Cerdo de recebo: Aquél, que debe reponer en régimen de montanera, como mínimo el 30 % de su peso de entrada, siendo ayudado en su cebo con piensos

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

autorizados por el Consejo Regulador, el cual determinará la fecha límite de salida de recebo.

Cerdo de campo: Aquél, cuya alimentación se lleva a cabo con pastos naturales de la dehesa y piensos autorizados. En este caso, los animales deben cumplir una serie de requisitos, como son:

- Un mínimo de 12 meses como edad de sacrificio.
- Densidades ganaderas máximas de 15 animales/ha.
- Un tamaño de cerca mínimo, independiente del número de animales en cebo, de 2 ha.
- Eliminación de la alimentación *ad libitum* como forma de alimentación de los animales en fase de acabado a partir de los 100 kg. de peso vivo.
- Distancia mínima de 100 metros entre el lugar de alimentación con piensos y el lugar de toma de agua, para favorecer el movimiento de los animales.
- La alimentación en la fase de acabado desde los 90-100 kg. hasta el sacrificio deberá aproximarse a la alimentación natural, por lo cual los piensos deben cumplir los siguientes requisitos:
 - *Un 75 % de la ración estará compuesta por cereales: maíz, cebada y trigo.
 - *La proteína se aportará basándose en tortas de oleaginosas (soja y girasol) o de alfalfa. Está prohibido el uso de harinas de pescado y carne.
 - *El nivel de fibra del pienso (salvados, tercerillas, cascarilla de arroz) deberá oscilar entre el 3 y el 6 %.
 - *En ningún caso, el nivel de grasa del conjunto del pienso del pienso de la ración debe superar el 5 %. Tampoco deben superar el 5 % del total de la ración, los correctores minerales vitamínicos.

2.4.- EPIDEMIOLOGÍA.

ROEPSTORFF y NANSEN (1994) en su revisión sobre la epidemiología y control de infecciones por helmintos en cerdos criados en sistemas extensivos e intensivos del norte de Europa, con especial referencia a Dinamarca, aseveran que está perfectamente establecida la dependencia que el desarrollo, supervivencia y transmisión de los helmintos parásitos del cerdo en el medio ambiente tienen de una serie de factores bióticos y abióticos, incluyendo la presencia de hospedadores intermediarios que son esenciales para algunas especies parásitas.

Además, concluyen que las prácticas de manejo influyen de manera determinante en los niveles de contaminación y en el riesgo de adquirir enfermedades, al igual que el desarrollo de una inmunidad protectora ejerce una influencia determinante en la epidemiología, bionomía y capacidad infectante de los helmintos, lo que puede ser modificado con las prácticas de manejo tanto en explotaciones intensivas como extensivas.

España, y más concretamente Extremadura, siempre ha sido pionera en la producción extensiva del cerdo, sistema tradicional que se ha utilizado para explotar de una manera sostenible el bosque mediterráneo adeshado de encinas y alcornoques. Sin lugar a dudas, este tipo de explotación, con todas las variables derivadas de las condiciones edáficas, climáticas y zootécnicas, favorece la presentación de parásitos de ciclo directo al posibilitar la transmisión por la ruta "fecal-oral". Asimismo, permite la presencia de numerosos hospedadores intermediarios y, por tanto, la aparición de parásitos con ciclo biológico indirecto. Coincidiendo con esta afirmación, MORA FRANQUÉS (1998) sostiene que la importancia de la ascariosis porcina aumenta en aquellas zonas donde el engorde se tiende a realizar de forma más extensiva o en aquellos sistemas donde la posibilidad de contacto de los cerdos con sus propias deyecciones es mayor.

Según ORTEGA (1998), la ascariosis es la helmintosis más frecuente e importante en la producción porcina. Su distribución es cosmopolita y la prevalencia individual es del 50-75 %. La mayoría de las pérdidas se producen por disminución en la ganancia diaria de peso y descenso en el índice de conversión. A dichas pérdidas hay que sumarles las derivadas del decomiso de las vísceras, hígados fundamentalmente, en el matadero, permaneciendo sin

valorar, por su complejidad, las pérdidas originadas por exacerbación de agentes bacterianos y víricos causantes de lesiones respiratorias

2.4.1.- Factores condicionantes de la enfermedad.

2.4.1.1.- Factores dependientes del parásito.

La gran prevalencia de la ascariosis porcina se explica, en parte, basándose en las siguientes características del parásito:

- Su extraordinaria capacidad reproductiva (Elevadísima prolificidad).
- Su gran bionomía. Los huevos, protegidos de la radiación solar directa y de la desecación pueden persistir varios años.
- Y su carácter monoxeno, no necesitando hospedadores intermediarios para completar su ciclo vital, que es directo.

Ascaris suum (Goeze, 1782), parásito de ubicación intestinal, es quizás el nematodo más frecuente en el cerdo, por lo que adquiere gran importancia en este hospedador. Ocasionalmente se ha encontrado, aunque de forma inmadura, en otras especies como en ovejas, vacas, perro, hombre y en condiciones experimentales se han conseguido obtener individuos adultos en conejo (SOULSBY, 1987b; CORWIN *et al.*, 1986).

Como se ha descrito anteriormente, su ciclo biológico es directo y se inicia con la puesta de huevos por parte de las hembras, capaces de eliminar hasta 200.000 huevos al día. Salen al exterior con las materias fecales y en unas semanas, dependiendo de la temperatura y humedad, en el interior del huevo se desarrolla la larva infectante, sin eclosionar como ocurre es común en los individuos del Orden Ascaridida. La capacidad adhesiva de la capa externa albuminosa, rugosa y pegajosa, se erige como factor importante en la persistencia y difusión del parásito. Para ORTEGA (1998), en las explotaciones intensivas, la difusión de los huevos puede llevarse a cabo por cucarachas pero también por instrumentos de limpieza, botas, etc. En la explotación extensiva es más importante el papel de las lombrices de tierra, pájaros, roedores, etc.

La infección se realiza normalmente por la ingestión de huevos larvados e infectantes. Éstos se encuentran en una gran diversidad de elementos, agua, alimentos, adheridos a la piel de las mamas, en las camas, pastos, y, también, determinados escarabajos y anélidos como la lombriz de tierra, ya comentado, pueden albergar fases infectantes (EUZEBY, 1963; KRAGLUND *et al.*, 1998).

Por otro lado, y en lo concerniente a su bionomía, los huevos son muy resistentes en el medio ambiente y pueden mantenerse viables durante más de 2 años (para algunos autores hasta 10 años). Este período tan largo está influenciado tanto por la temperatura como por la humedad. Las temperaturas elevadas acortan el período de vida de los huevos. A 50°C no sobreviven más de 8 horas, 30 segundos a 60°C y a 90°C son destruidos en menos de 10 segundos. Entre 5°C y 24°C, pero en ambiente seco, dejan de ser infectantes en 3 meses. Las bajas temperaturas igualmente destruyen a los huevos. Así, entre 4°C y 25°C, con una humedad del 80 %, la supervivencia no sobrepasa los tres meses. Temperaturas de congelación, de -20 ó -30°C los mantienen viables también durante unos tres meses (EUZEBY, 1963; SOULSBY, 1987a). Con temperaturas inferiores a 15°C, los huevos pueden sobrevivir pero no se desarrollan. Así, las temperaturas a principios de verano pueden provocar el desarrollo embrionario de esos huevos acumulados en el período invernal (NILSSON, 1982; ROEPSTORFF *et al.*, 1999). En este contexto, podemos considerar como muy interesantes las aportaciones de LARSEN y ROEPSTORFF (1999), quienes demuestran que en verano desaparece mayor número de huevos de las deposiciones que en invierno y otoño. Además influye mucho la altura de la hierba así como el hecho de estar envueltos en el barro, ya que conservan la humedad, aumentando así la supervivencia de los huevos. Por eso, en explotaciones extensivas es recomendable la rotación de los campos, aunque dicha práctica no consiga la completa eliminación de los parásitos. Finalmente, estos autores comprueban que en Dinamarca, y en lo que a la presencia de *Ascaris suum* se refiere, los suelos no son infectivos durante el período de octubre a abril.

El tipo de suelo juega también un papel importante, mientras que los suelos húmedos, sombríos y con abundante vegetación los huevos permanecen viables durante largos períodos, en los secos y arenosos donde incide directamente los rayos solares se destruyen en pocas horas.

Los rayos ultravioletas y las radiaciones gamma son letales para los huevos, así como la ausencia de oxígeno, debido a fenómenos de fermentación y putrefacción.

2.4.1.2.- Factores dependientes del hospedador.

2.4.1.2.1.- Edad.

La edad, como factor intrínseco, juega un papel muy importante, siendo los animales de 2-3 meses los que suelen manifestar, claramente, signos de la parasitación. Tras los tratamientos oportunos o eliminación espontánea de los vermes, los animales quedan inmunes, pero al cabo de dos años, aproximadamente, pueden volver a reinfectarse. La presencia de otros patógenos en el ámbito intestinal favorece el asentamiento de los parásitos (EUZEBY, 1963). La parasitación alcanzada en los primeros estadios de la vida afecta mucho más al crecimiento que las infecciones posteriores. Los resultados demuestran que la desparasitación de los cerdos al llegar al cebadero, no se traduce en una mayor ganancia de peso; este tratamiento actúa, más bien, aumentando las manchas de leche hepáticas, lo cual provoca su decomiso al sacrificio. Resulta indicado realizar medidas profilácticas de control antiparasitario en lechones, con el fin de obtener mejores rendimientos durante el período de engorde (NILSSON y MARTINSSON, 1980).

Por su parte RUEDA y MONTES (1990) realizan un estudio parasitológico en explotaciones porcinas extensivas de la provincia de Badajoz, observando que en cerdos destetados, los parásitos más frecuentes fueron *A. suum*, *T. suis* y *Metastrongylus spp.*, los cuales presentaron una particular repercusión en los animales mantenidos en semi-estabulación.

ERIKSEN *et al.* (1992b) pudieron comprobar en un grupo de cerdos expuestos naturalmente a la acción del parásito, que los cerdos en período de crecimiento presentan los niveles más altos de respuesta, siendo mucho menor en los cerdos en fase de cebo y prácticamente nula en la cerdas.

ROEPSTORFF y NANSEN en 1994 observan que *Isospora* y *Strongyloides* son más frecuente en lechones lactantes o recién destetados,

Ascaris y *Trichuris* en el cebo, y *Oesophagostomun spp.*, *Hyostromylus* y *Eimeria* spp. en individuos reproductores.

Para ORTEGA (1998) el contagio por *Ascaris suum* se produce en la explotación extensiva ya desde la lactancia, mientras que en las explotaciones intensivas tecnificadas el contacto con el parásito se produce en el cebo. Del mismo modo, para ALONSO DE VEGA y RUIZ DE YBÁÑEZ (1999), esta parasitosis afecta, especialmente, a los cerdos después del destete o en período de engorde. Finalmente, MORA FRANQUÉS (1998) entiende que *A. suum* debería ser considerado en el diagnóstico diferencial de neumonías de lechones de 8-10 semanas de vida en sistemas de producción extensivos, no debiendo nunca introducirse lechones destetados en parques usados previamente por reproductores

2.4.1.2.2.- Alimentación.

Otro factor importante a tener en cuenta, en este caso de carácter extrínseco, es la alimentación. Dietas carentes en vitamina A, B o proteínas, son factores favorecedores de la ascariosis porcina, así como los estados de desequilibrio calcio - fósforo. Por su parte, las dietas pobres en hidratos de carbono, son desfavorables para el asentamiento de los vermes (EUZEBY, 1963). En este sentido, BJORN *et al.* (1996) demuestran, trabajando con 20 cerdos de un peso aproximado de 26 kg, que ofreciendo dos dietas diferentes pero con la misma cantidad de carbohidratos, proteínas y micronutrientes, el número de huevos eliminados de *Ascaris suum* era significativamente más alto en los cerdos con alimentación tradicional basada en cebada, que los cerdos alimentados con piensos comerciales. Finalmente, PETKEVICIUS *et al.* (1997), con cerdos libres de parásitos, infectados experimentalmente con 600 huevos de *Ascaris suum* y 6000 larvas de *Oesophagostomum dentatum* por cerdo, ensayan 5 dietas diferentes variando el tipo y la cantidad de carbohidratos. Los cerdos fueron sacrificados a las 8 semanas postinfección, comprobando que respecto a *Ascaris suum* no se observan diferencias apreciables en cuanto al establecimiento y localización de los parásitos. Sin embargo, en *O. dentatum* encuentran niveles más altos de individuos adultos en las dietas ricas en polisacáridos (no almidones) y lignina.

2.4.1.3. - Factores dependientes del medio ambiente.

2.4.1.3.1. - Agentes químicos y desinfectantes.

Contrariamente a lo que podía pensarse, los desinfectantes usuales alargan la supervivencia de los huevos. Esto es debido a que se produce una eliminación de la flora bacteriana, con lo cual no se producen fermentaciones ni putrefacciones, manteniéndose unos buenos niveles de oxígeno, que favorecen la persistencia en el medio. Por el contrario, las sustancias reductoras como el nitrito sódico, solventes de lípidos, fenoles y sus derivados, así como los vapores tóxicos, tales como el bromuro de metilo y el dibrometano (altamente tóxicos) destruyen los huevos rápidamente. Otros productos como el yodo y sus derivados, así como los ésteres fosfóricos destruyen los huevos en 15-30 minutos. El formol a concentraciones del 5 % es uno de los productos más utilizados y eficaces para la destrucción de los huevos de *Ascaris* (EUZEBY, 1963). Recientemente, MIELKE y HIERPE (1998), en condiciones de laboratorio, demuestran que los derivados del cresol destruyen tanto a los huevos como a las larvas de *A. suum*.

2.4.1.3.2. - Estación del año.

En cuanto a la estación del año, el mayor número de decomisos de hígados con manchas de leche debidos a infección por *Ascaris* se produce alrededor del mes de septiembre, y las menores tasas de decomiso en abril (MENZIES *et al.*, 1994), si bien dichas denuncias dependen en gran medida de las características climatológicas y medioambientales. Como aporte de datos de índole epidemiológica y referidos concretamente al porcino ibérico en estado puro o bien cruces industriales en Extremadura, GARCÍA-VALLEJO (1999), en su estudio sobre 689 animales, encuentra que *Ascaris suum* muestra una mayor prevalencia durante los meses primaverales y otoñales, siendo más escasa su presencia en los meses veraniegos, observando un escaso número de casos entre los meses de mayo y septiembre. Los porcentajes de prevalencia obtenidos, según los meses, fueron: enero (38 %), febrero (44'6 %), marzo (43'3 %), abril (20 %), mayo (9'8 %), junio (12'9 %), julio (28'2 %), septiembre (20'3 %), octubre (47'5 %), noviembre (14'5 %) y diciembre (31'9 %). Por su parte, PEREZ-MARTIN *et al.*, en 1991, también en porcino ibérico, denuncian que durante los meses de otoño e invierno los porcentajes son más elevados que en primavera - verano. Finalmente, argumentan que el carácter monoxeno

(ciclo biológico directo) de *Ascaris suum* condiciona su gran influencia por la humedad; por ello, los porcentajes de parasitación se incrementan en los meses en los que este factor climático es más patente.

2.4.1.3.3.- Tipo y tamaño de la explotación.

El tipo de explotación juega un papel igualmente importante. Animales confinados durante todo su ciclo productivo es difícil que adquieran este tipo de parasitación, salvo que existan portadores asintomáticos (cerdos adultos) en la explotación. Es más frecuente en cerdos de pastoreo, en un régimen semiextensivo o criados en parques de tierra, donde la contaminación del suelo juega un papel muy importante a la hora de la transmisión. La prevalencia varía dependiendo de las condiciones de explotación a que están sometidos los animales. Así, en mantenimientos intensivos cerrados, la incidencia es muy baja y solo en determinadas condiciones, puede aparecer un proceso patológico. Por el contrario, en animales en pastoreo, puede presentarse en todos los individuos, y en sistemas cerrados con parques, si bien la incidencia es baja, se mantiene entre el 30-60 %. Las hembras son, en todo caso, mantenedoras de una baja cantidad de parásitos adultos en su tubo digestivo y las responsables de la contaminación periódica del entorno (ALONSO DE VEGA y RUIZ DE YBÁÑEZ, 1999). En sistemas de alojamientos modernos, con un correcto protocolo "todo dentro - todo fuera", con limpieza y desinfección de las salas de partos y destete antes de 30 días, la probabilidad de infección por transmisión vertical es muy baja. Si se utiliza el sistema "todo dentro - todo fuera" en la fase post-destete también se puede prevenir la infección hasta la fase de engorde, donde la contaminación fecal suele ser más fuerte y los cerdos permanecen tiempo suficiente para permitir la transmisión (MORA FRANQUÉS, 1998). Por último, se ha observado que los gradientes de infectividad más altos dentro de una explotación semi-extensiva se encuentran en el propio alojamiento de los cerdos; aunque la mayor cantidad de huevos están fuera de dicho alojamiento, en ella es donde mayor número de huevos embrionados existe (ROEPSTORFF *et al.*, 1999)

2.4.1.3.4. - Prácticas higiénico sanitarias y de manejo.

En cuanto al control de las infecciones, son fundamentales los alojamientos y prácticas higiénico - sanitarias. El desarrollo, supervivencia y transmisión de los parásitos porcinos en el medio ambiente depende de un variado número de factores entre los que destacan las prácticas de manejo, las cuales influyen de forma notable en el grado de contaminación del medio y, por tanto, en el riesgo de presentación de las parasitosis. El tipo de suelo, el uso restrictivo de paja, la práctica del destete precoz y el movimiento de los animales a alojamientos desinfectados, previene la presentación de estas enfermedades (ORTEGA, 1998).

En este orden de cosas, VERCRUYSSSE *et al.* (1997). comprueban que la tasa de prevalencia de la infección por *Ascaris* es menor en granjas con mejores condiciones sanitarias. En Dinamarca, los sistemas intensivos de alta producción están caracterizados por un alto grado de higiene, que impide el embrionamiento de los huevos y por tanto, el desarrollo larvario. En algunos casos se aplican antihelmínticos de manera regular, teniendo un escaso o nulo efecto adicional.

En los manejos tradicionales, donde las condiciones favorecen la transmisión de helmintos, el control debe estar basado en la mejora de los niveles de higiene combinado con el uso estratégico de antihelmínticos. A menudo, las infecciones son subclínicas, lo cual no motiva el cambio en las prácticas de higiene en el control, lo que da lugar a una permanente acción del parásito. En otros casos, de manera rutinaria, los cerdos se someten a tratamientos antiparasitarios periódicos, lo cual provoca que los efectos curativos sean transitorios, ya que los cerdos se reinfectan continuamente. En el caso de los sistemas extensivos, se puede hacer uso de la rotación de pastos, la alternancia con otra especie animal, etc. Finalmente, el uso periódico y continuado de antihelmínticos puede conllevar la adquisición de resistencias a dichas drogas por parte de *Ascaris suum*, lo cual es muy grave, ya que se trata de un parásito con un fuerte potencial reproductivo, pudiendo transmitir esa resistencia a su progenie (ROEPSTORFF y NANSEN, 1994). MEJER *et al.* (1999) estudian la posible influencia del anillado del hocico sobre la transmisión de helmintos parásitos en cerdos en extensivo de Dinamarca, concluyendo que aunque el anillado disminuye la acción destructiva del terreno, no influye en los niveles de transmisión de *Ascaris suum*.

En la explotación del cerdo ibérico de manera extensiva, las características sanitarias de las mismas dejan mucho que desear, siendo deficientes por la práctica ausencia de prácticas quimiopreventivas, así como por las escasas condiciones higiénicas de los alojamientos (PÉREZ MARTÍN *et al.*, 1996). Estos autores abundan en esta aseveración, al detectar en los animales muestreados de la región extremeña una prevalencia total de parasitación, por al menos una especie, del 95'88 %, llegando ésta al 100 %, cuando el estudio se realiza por granjas. Estos datos sitúan a nuestra ganadería porcina de montanera en un deficiente nivel sanitario, con respecto a otros países europeos y además revelan que la infección por *A. suum*, probablemente nos esté indicando una higiene deficiente en la explotación.

2.4.2.- Prevalencia y distribución geográfica.

Ascaris suum es el nematodo intestinal más grande que afecta al ganado porcino, el más cosmopolita y posiblemente uno de los que mayor significación veterinaria tiene.

HWAN JANG (1975), en Corea, obtiene unas parasitaciones por *Ascaris suum* del 25.6 % a partir de 395 análisis coprológicos realizados. WANG (1978) cita porcentajes de parasitación similares, del 22.9 % y 42.5 % en la zona Central y en "Sun Moon Lake" de Taiwan, respectivamente. LEE *et al.* (1987) evidencian, mediante análisis coprológicos, tan sólo un 2 % de cerdos con *Ascaris suum* en Malasia.

En Australia, MERCY *et al.* (1989) evidencian incidencias más elevadas que en Asia, llegando hasta el 45 % de granjas positivas a *Ascaris suum* entre las muestreadas.

En el continente africano, concretamente en Mozambique, JURASEK (1986) aporta datos del 7.5 % de parasitación. Similares porcentajes evidencia CHAMBERS (1987) en mataderos de Zimbabwe con un 24.2 % y un 7.9 % de animales positivos en los años 1984-85 y 1985-86 respectivamente, realizando el diagnóstico en base a los hígados decomisados por lesiones de *Ascaris suum*. En Nigeria, OLUFEMI (1980) hace mención a que las infecciones por *Ascaris* se presentan en todo el país, siendo una de las

patologías productora de mayores pérdidas. Para este autor, la medida más eficaz se centra en el empleo de antihelmínticos, si bien es necesario emplear algunas medidas basadas fundamentalmente en el manejo y sistemas de cría, para reducir o eliminar la infección por *Ascaris*. En ese país, la Universidad de Ibadan recomienda un programa de lucha en el que los verracos se tratan sistemáticamente dos veces al año. Las cerdas se tratan al destete, siete semanas después, y siete días antes del parto; finalmente, la propuesta incluye el destete de los lechones a las 6 semanas, y su desparasitación a las 7 semanas de vida

Mayor número de referencias bibliográficas sobre *Ascaris suum* encontramos en los estudios parasitólogos norteamericanos (EEUU), los cuales aportan denuncias de parasitaciones más elevadas a las anteriormente citadas. De este modo, en un estudio realizado a nivel nacional que incluyó 22 estados, TODD (1972-73), cit. por CORWIN y BRAUER (1980) denuncia que los ascáridos se encontraban en el 81 % de los cerdos de cebo y en el 65 % de las cerdas reproductoras. BENNET y COPEMAN en 1970 (citado por CORWIN y BRAUER, 1980) realizaron un estudio en 246 cerdos de cebo, en Indiana, Kentucky, Arkansas, Missouri y Tennessee, demostrando que el 95 % de los animales se encontraban parasitados por helmintos, con una media de 64 vermes por cerdo infectado. El 65 % de los animales parasitados lo estaban por *Ascaris suum*. BIEHL (1984), aporta además una mayor incidencia en machos que en hembras, a saber: 75 % de piaras de cerdos positivas y un 25 % de cerdas reproductoras. MORRIS *et al.* (1984) encuentran parasitaciones del 53 % sobre casi un centenar de granjas analizadas en Oklahoma (EEUU). REDDINGTON *et al.* (1986), por su parte, detectan en Georgia, entre los años 1977 y 1981, una parasitación por *A. suum* en torno al 31'7 %. El 78'6 % de ellos albergaban en su intestino delgado de 1 a 20 vermes, siendo la media de 1 a 3 vermes por animal. KENNEDY *et al.* (1988) evidencian, tras analizar 2.822 muestras fecales, parasitaciones por *Ascaris suum* en el 70 % en los cerdos investigados en 84 granjas de 15 estados de EEUU.

Por otra parte, en las Antillas francesas, ESTERRE y MAITRE (1985) evidencian parasitaciones por este ascárido del 17 %, valor incrementado al doble en la Isla del Príncipe Eduardo (Canadá), en un estudio sobre 386 cerdos, realizado por BERNARDO y DOHOO (1988). Finalmente, en Canadá el

porcentaje de hígados con lesiones compatibles con ascariosis se sitúa en el 44-50 % (WAGNER y POLLEY, 1997).

En Europa, los valores son muy variables según el país y la región que se estudia. Así, en Italia, SOLDATI *et al.* (1981), concretamente en la provincia de Módena, detectan un 35 % de granjas parasitadas con *Ascaris suum* y un 4.5 % de cerdos positivos sobre un total superior a 1500 muestras. Por otro lado, POGLAYEN *et al.* observan, en ese mismo año, una parasitación en torno al 22.8 % en la zona de Lombardia. Estos autores, en 1984, obtienen un 37.5% de granjas positivas y un 7.21% de cerdos con *Ascaris suum* sobre casi 2.000 muestras investigadas. En el año 1985 un 34 % de las granjas de Bolonia y Ravenna presentaban parasitación por este nematodo. Posteriormente, TRALDI *et al.* (1988) en el norte de Italia, vuelve a corroborar los resultados anteriores con índices de positividad del 22 % para las granjas investigadas y del 7% para los porcinos analizados. MARTINI *et al.* (1988) describen una prevalencia media a lo largo del año del 3.2%, detectándose en el otoño los valores más elevados y en primavera los menores. Este estudio se realizó sobre 90.860 cerdos en la provincia italiana de Cremona en los años 1982-83. PRETI *et al.* (1990), en su estudio de la infección por *Ascaris suum* en cerdos criados en régimen intensivo en el norte de Italia, encuentra una prevalencia del 24 %.

En Suiza, INDERMÜHLE (1978) evidencia *Ascaris suum* en un 3.3% de los animales sacrificados. Muy similares resultados obtienen tanto ROMANIUK *et al.* (1983) como BÜHLMAN *et al.* (1983), con parasitaciones del 4.9% en Rumanía y del 6.4% en Alemania. También en Alemania, el estudio de más de 10 millones de cerdos sacrificados durante un período de dos años muestra una prevalencia que oscila entre el 17 y el 11'2% de animales con lesiones hepáticas (HOY, 1994, citado por ORTEGA, 1998).

Por otro lado, en Bélgica DE DEKEN (1984) obtiene porcentajes de positividad a *Ascaris suum* más elevados, ya que detecta el 13.3% de cerdas reproductoras, un 23.5% de verracos y un 10.7% en cerdos de engorde parasitados. En ese mismo país, el 35'7 % de los hígados inspeccionados muestran una o más manchas de leche (VERCRUYSSSE *et al.*, 1997).

NILSSON y MARTINSSON (1980) tras el análisis de 628 muestras fecales en una explotación de cebo, con sistema "todo dentro, todo fuera" y

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

cuyos animales provenían de 56 granjas de producción situadas en tres regiones del sudoeste de Suecia, detectan mediante análisis coprológicos un 50% de cerdos positivos al recuento de huevos de *Ascaris*, con una media de casi 7.000 huevos. La incidencia varió notablemente de unas regiones a otras (33'9-55'8%). Casi el 50 % de los animales con recuento de huevos negativo corroboraron dicho diagnóstico, mediante la ausencia de adultos intestinales tras su sacrificio en matadero. El otro 50% presentó una infección débil, con una media de 7 *Ascaris*/individuo.

En Dinamarca, las tasas de prevalencia observadas, tomando como referencia la detección de huevos de ascáridos en las heces, muestran unos porcentajes similares tanto en cerdos de cebo (30%) como en cerdas de renovación (25%) (ROEPSTORFF y JORSAL, 1989).

En España, SIMÓN VICENTE (1979) afirma que *Ascaris suum*, junto a los acantocéfalos, son los parásitos de mayor interés en los suinos de la dehesa, ya que al pastar y hozar libremente, tienen capacidad de contaminarse fácilmente por aquellos. Con esta conclusión, concuerda igualmente, CORDERO DEL CAMPILLO (1980), cifrando la incidencia mundial entre un 20 y un 70%. El Índice Catálogo de Zooparásitos Ibéricos de CORDERO DEL CAMPILLO *et al.* (1994) indica que *Ascaris suum* tiene una distribución generalizada por toda la península y provincias insulares, tanto en cerdo como en jabalí.

En Extremadura, HABELA *et al.* (1987) hacen una revisión sobre la influencia de la dehesa en la patología parasitaria del cerdo ibérico, a la vez que aportan datos de la incidencia de parasitación por *Ascaris suum* en Extremadura, cifrándola en un 28'4 % de los diagnósticos realizados. Dichos diagnósticos se ubicaron en los términos de Brozas, Trujillo, Cáceres, Logrosán, Navalmoral de la Mata, Olivenza, Badajoz, Alburquerque, Segura de León, Alconchel y Mérida. También en Badajoz, RUEDA y MONTES (1990) comentan que *Ascaris suum* ofrece una distribución generalizada, afectando principalmente a cerdos estabulados. PÉREZ-MARTÍN (1996) por su parte, en su estudio realizado, durante 3 años, en porcinos del sur de la provincia de Badajoz denuncia unas cuotas de parasitación entre el 34 y el 45 %, dependiendo de los años, con una media del 37'04%. GARCÍA-VALLEJO *et al.* (1999) tras el análisis de 251 porcinos ibéricos y cruzados, de ambos

sexos, y procedentes de explotaciones ubicadas en una zona de altísima producción porcina de excepcional cualificación, como es la que incluye los términos municipales de Fregenal de la Sierra, Higuera la Real y sus alrededores, encuentran como nematodo más prevalente a *Ascaris suum*, parasitando a un 20 % de los animales estudiados. En un estudio más amplio, sobre porcinos ibéricos del sur de ambas provincias extremeñas, GARCÍA VALLEJO (1999) sobre 689 animales estudiados, encuentra que *A. suum* es el parásito más prevalente con niveles del 28'7%, seguido de *Metastrongylus spp.* (24%) y *Oesophagostomum dentatum* (11'8%).

Para finalizar, creemos interesante citar los resultados obtenidos por RODAS (1999) en las matanzas domiciliarias de cerdos en la Zona de Salud de Montijo (Badajoz) durante el período 91-97. Cada campaña se circunscribe al período comprendido entre noviembre y febrero. Este autor divide las lesiones encontradas en varios grupos, uno de los cuales es denominado "lesiones parasitarias: nódulos y granulomas inespecíficos", grupo en que, pensamos, se incluirían las lesiones provocadas por el género *Ascaris*. En todas las campañas bajo estudio se decomisaron 461'4 kg de hígado, de los cuales 281 kg lo fueron debido a las, antes mencionadas, "lesiones parasitarias". Concretamente, y bajo mención expresa, únicamente se hace referencia a la presencia de *Ascaris* en las campañas 93-94 (9 cerdos en 9 matanzas) y 94-95 (5 cerdos en 5 matanzas). El número de cerdos sacrificados en total fue de 7.317 en 4.201 matanzas, lo que equivale a 1'74 cerdos por matanza.



MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. - DISEÑO EXPERIMENTAL.

El presente trabajo se planteó básicamente, con el ambicioso objetivo de querer conocer el grado de contacto entre *Ascaris suum* y el cerdo ibérico en la región de Extremadura. El grado o nivel de contacto entre parásito y hospedador, fue medido mediante la evaluación del estado inmunológico de los animales, utilizando para ello, la técnica seroepidemiológica ELISA. Dentro de este contexto, hemos aprovechado los resultados obtenidos, para buscar las posibles respuestas que las peculiares condiciones de cría de esta raza ofrece en extensividad y que, sin lugar a dudas, son sensiblemente diferentes, a la de cualquier otra raza.

En pos de la consecución de dichos objetivos se diseñó el siguiente planteamiento experimental:

3.1.1. - Animales objeto de estudio.

Los animales chequeados correspondieron única y exclusivamente a cerdos del tronco ibérico en pureza o sus cruces industriales con la raza Duroc y/o Duroc-Jersey. En ningún momento se estudiaron animales explotados en sistemas intensivos de producción, ya fueran cerdos blancos ni de cualquier otra raza. Para ello, se tomó como referencia el Decreto 158/1.999, que establece la regulación zootécnico-sanitaria de las explotaciones porcinas en la Comunidad Autónoma de Extremadura.

En ese sentido, se consideraron explotaciones porcinas extensivas aquellas cuyos sistemas de producción contaban con recursos naturales adecuados para su aprovechamiento por esta especie, fundamentalmente en régimen de pastoreo en áreas de dehesa y organizado racionalmente. Lógicamente, se incluyeron aquí, las explotaciones de cebo en montanera, completo o incompleto. Según el Decreto, no se consideraron extensivas aquellas explotaciones con más de 15 cerdos por ha, debiendo estar cercadas perimetralmente, para impedir el acceso de otros animales domésticos o salvajes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Respecto a la edad de los animales muestreados, siguiendo las indicaciones de la hoja de campo que acompañaba a las muestras de sangre, se establecieron tres categorías o grupos de edad: recría, cebo y reproductores.

Es necesario hacer la salvedad, que a veces, animales menores de tres meses (lechones) han sido chequeados como animales de recría, lo cual no es reflejado en la hoja de campo por no disponer ésta de esa apreciación.

Teniendo en cuenta los resultados de las investigaciones realizadas por otros autores en Extremadura, en trabajos relacionados con el nuestro, se decidió fijar en el 30 % la prevalencia esperada. Con esta apreciación, junto con los datos censales, el muestreo se planteó siempre evitando un error máximo total del 2 % para cualquier grupo de edad y provincia. Así por ejemplo, se estimó con un nivel de confianza del 99,5 % y un error del 1,81 % la recogida de un total de 5.060 muestras de suero.

3.1.2.- Recogida y procesado de las muestras.

Para el establecimiento del banco de sueros, se pensó en las muestras que de manera rutinaria se envían a los laboratorios oficiales como el Laboratorio Regional de Sanidad Animal en Badajoz y los Laboratorios Comarcales de Cáceres y Zafra. Dichas muestras de sangre son enviadas a los laboratorios oficiales por diversas causas, especialmente consecuencia de las Campañas de Erradicación de Peste Porcina Africana, Peste Porcina Clásica y Enfermedad de Aujeszky. El número de muestras que se envían varía dependiendo del objetivo perseguido, y así, por ejemplo, cuando se trata de calificar una explotación, es obligatorio chequear el 100 % de los animales mayores de 40 Kg. Sin embargo, cuando se trata de explotaciones pertenecientes a una Agrupación de Defensa Sanitaria (ADS), están obligadas a chequear el 100 % de los reproductores, una vez al año. Las normas de sangrado de los cerdos quedan recogidas en el Real Decreto 1.493/95, de 8 de septiembre, por el que se establece el plan de seguimiento sanitario del ganado porcino. Establece los chequeos según las áreas de producción extensiva e intensiva y a su vez las delimitadas por la Decisión 93/443/CEE de 6 de julio.

Todas las muestras son remitidas junto a una hoja de campo en la que figuran los siguientes datos:

- Nombre del veterinario.
- N° de colegiado.
- Localidad
- Propietario.
- Documento Nacional de Identidad.
- Nombre de la finca o explotación.
- Término municipal.
- Edad: Reproductores, Recrío o Cebo.
- Tipo de Calificación Sanitaria.
- N° de Registro.
- Provincia.
- N° de muestras totales.
- Motivos del análisis: campaña, guía, jabalíes o calificación.
- Identificación individual de las muestras.
- Fecha de extracción.

En nuestro caso, recogimos la totalidad de las muestras que se enviaron por parte de los veterinarios al laboratorio, dando el correspondiente número de registro a cada explotación. Desechamos todos aquellos registros que no cumplían el propósito de este trabajo (condiciones de extensividad y raza). Para ello, contamos con la ayuda de las Secciones de Patología Porcina de Cáceres y Badajoz, pertenecientes a la Dirección General de la Producción e Investigación Agrarias de la Consejería de Agricultura y Medio Ambiente de la Junta de Extremadura, así como del Servicio de Registro de Explotaciones y Organismo Pagador, dentro de la Dirección General de Financiación y Medios Agrarios, de la misma Consejería.

Las muestras de sangre eran remitidas en "chupetes plásticos" o en envases tipo "eppendorffs". Aquellas muestras en malas condiciones de conservación o con escasa cantidad, fueron desechadas. Por la naturaleza del envase y la condición de envío, fue imposible evitar, en muchas ocasiones, las situaciones de hemolisis, que sin embargo, pensamos no influyen en el resultado.

Una vez seleccionadas las muestras, éstas eran centrifugadas a 2.500 r.p.m. durante 10 minutos, separando posteriormente el plasma, que era de nuevo envasado en eppendorffs, y congelado a -35 °C hasta el momento de su

uso. Todas las muestras eran identificadas con su correspondiente número de registro que se correspondía con el relativo a la hoja de campo.

Para facilitar la sistemática de trabajo, se elaboraron unas gradillas metálicas y de madera, donde las muestras se ubicaban exactamente en la misma posición que en la placa ELISA, para saber así, de manera rápida y fiable, donde se encontraban los sueros problema, así como la posición donde empezaban y donde acababan los diferentes registros.

3.1.3.- Zonas de muestreo.

En principio, se planteó la recogida de muestras de todas las comarcas agrarias de Extremadura. Sin embargo, ese propósito fue imposible, ya que en algunas de ellas, la cría de ganado porcino es mínima, y si ocurre, lo es mediante sistemas intensivos o semiextensivos. Por tanto, las zonas de muestreo se circunscribieron a todas aquellas donde se explota el cerdo ibérico en extensividad, existiendo áreas como el Sur de Badajoz, donde el número de muestras fue mucho mayor que en el resto de la región, por ser éste, el corazón del cerdo ibérico de Extremadura. Dependiendo de los datos extraídos de censos, en ocasiones se prefirió la división por Oficinas Veterinarias de Zona (OVZ) para la realización de los test estadísticos.

Como consecuencia de lo anteriormente expuesto, en la provincia de Badajoz no se obtuvieron muestras de las comarcas de Puebla de Alcocer, Herrera del Duque, Castuera y D. Benito, si bien en este último caso se chequeó 1 explotación situada en el término de Orellana la Vieja con un total de 2 muestras. En la provincia de Cáceres, han quedado sin estudiar las comarcas de Brozas, Logrosán y Jaraíz de la Vera.

Como se aprecia en la tabla 13, el número máximo de explotaciones por comarca estudiadas ha sido de 54, correspondientes a la de Jerez de los Caballeros. Sin contar las comarcas donde no se analizaron muestras, las comarcas con menos explotaciones analizadas, han sido, Almendralejo (4) y Llerena (5). También en la provincia de Cáceres, se han muestreado escasamente algunas comarcas, como las de Hervás (2) y Navalmoral de la Mata y Coria con 5 y 6 explotaciones, respectivamente.

Tabla 13. Número de explotaciones por comarca según edad.

Comarca	Explotaciones (n)	Recrío (n)	Cebo (n)	Reproductores (n)
ALBURQUERQUE	14	7	5	2
ALMENDRALEJO	4	1	3	-
AZUAGA	19	6	12	1
BADAJOS	15	8	6	1
CÁCERES	21	2	18	1
CORIA	6	1	5	0
DON BENITO	1	0	0	1
HERVÁS	2	1	1	0
JEREZ DE LOS CABALLEROS	54	20	21	13
LLERENA	5	3	2	0
MÉRIDA	10	5	3	2
NAVALMORAL DE LA MATA	5	0	0	5
OLIVENZA	18	11	5	2
PLASENCIA	7	3	4	0
TRUJILLO	13	2	3	8
VALENCIA DE ALCÁNTARA	11	3	8	0
TOTAL	205	73	96	36

La media de explotaciones investigadas por comarca, en la provincia de Badajoz ha sido de 11'66. Sin embargo, si prescindimos de las comarcas donde no se han recogido muestras, la media asciende a 17'50. En Cáceres, la media ha sido de 9'28.

MATERIAL Y MÉTODOS

Tabla 14. Número de explotaciones pacenses según su ubicación y edad.

Comarca/Términos	Explotaciones	Recrío	Cebo	Reproductores
ALBURQUERQUE				
Alburquerque	6	3	2	1
San Vicente de Alcántara	3	1	2	-
Villar del Rey	5	3	1	1
TOTAL	14	7	5	2
MÉRIDA				
Mérida	5	1	3	1
Montijo	4	4	-	-
Nava de Santiago	1	-	-	1
TOTAL	10	5	3	2
BADAJOS				
Almendral	2	1	1	-
Badajoz	10	5	4	1
Nogales	2	2	-	-
Talavera la Real	1	-	1	-
TOTAL	15	8	6	1
ALMENDRALEJO				
Llera	1	-	1	-
Puebla de Sancho Pérez	2	1	1	-
Santa Marta	1	-	1	-
TOTAL	4	1	3	-
OLIVENZA				
Alconchel	4	2	1	1
Cheles	2	-	2	-
Olivenza	5	4	1	-
Valverde de Leganés	2	2	-	-
Villanueva del Fresno	5	3	1	1
TOTAL	18	11	5	2

Tabla 14. (Continuación)				
Comarca/Términos	Explotaciones	Recrío	Cebo	Reproductores
JEREZ DE LOS CABALLEROS				
Barcarrota	8	5	2	1
Fregenal de la Sierra	5	3	2	-
Higuera la Real	2	-	2	-
Jerez de los Caballeros	28	8	12	8
Oliva de la Frontera	2	2	-	-
Salvaleón	4	-	3	1
Valencia Mombuey	2	2	-	-
Zahínos	3	-	-	3
TOTAL	54	20	21	13
LLERENA				
Fuente de Cantos	3	3	-	-
Higuera de Llerena	1	-	1	-
Villagarcía de la Torre	1	-	1	-
TOTAL	5	3	2	-
AZUAGA				
Azuaga	7	1	5	1
Berlanga	2	-	2	-
Granja de Torrehermosa	2	2	-	-
Maguilla	6	3	3	-
Peraleda del Zaucejo	2	-	2	-
TOTAL	19	6	12	1

MATERIAL Y MÉTODOS**Tabla 15. Número de explotaciones cacereñas según su ubicación y edad.**

Comarca/Términos	Explotaciones	Recrío	Cebo	Reproductores
CÁCERES				
Arroyo de la Luz	8	-	8	-
Cáceres	8	2	5	1
Casar de Cáceres	1	-	1	-
Casas de Don Antonio	1	-	1	-
Torremocha	1	-	1	-
Torreorgaz	1	-	1	-
Valdefuentes	1	-	1	-
TOTAL	21	2	18	1
TRUJILLO				
Alcalá de Trujillo	1	-	1	-
La Cumbre	4	1	1	2
Madroñera	1	1	-	-
Miajadas	1	-	-	1
Robledillo de Trujillo	2	-	-	2
Salvatierra de Santiago	3	-	1	2
Trujillo	1	-	-	1
TOTAL	13	2	3	8
VALENCIA DE ALCÁNTARA				
Herrera de Alcántara	4	1	3	-
Salorino	1	-	1	-
Valencia de Alcántara	3	1	2	-
Villanueva de Alcántara	3	1	2	-
TOTAL	11	3	8	-

Tabla 15. (Continuación)				
Comarca/Términos	Explotaciones	Recrío	Cebo	Reproductores
NAVALMORAL DE LA MATA				
Peraleda San Román	3	-	-	3
Valdelacasa de Tajo	2	-	-	2
TOTAL	5	-	-	5
PLASENCIA				
Carcaboso	1	1	-	-
Malpartida de Plasencia	1	-	1	-
Oliva de Plasencia	1	-	1	-
Santibáñez el Bajo	1	1	-	-
Serradilla	1	-	1	-
Torrejón el Rubio	2	1	1	-
TOTAL	7	3	4	-
HERVÁS				
Abadía	1	1	-	-
Ahigal	1	-	1	-
TOTAL	2	1	1	-
CORIA				
Coria	1	-	1	-
Holguera	2	1	1	-
Pedroso de Acín	1	-	1	-
Perales del Puerto	1	-	1	-
Portaje	1	-	1	-
TOTAL	6	1	5	-

En relación a las Tablas 14 y 15, y en primer lugar en referencia a Badajoz (Tabla 14), de sus 162 términos se han chequeado un total de 35 municipios, lo que corresponde a un 21'60 % del total. Si nos centramos en las comarcas verdaderamente porcicultoras, es decir en aquellas que existen gran número de explotaciones extensivas, tal y como ocurre en las comarcas de

MATERIAL Y MÉTODOS

Olivenza, Jerez de los Caballeros, Llerena y Azuaga, el porcentaje de muestreo fue mayor. Así, de los 52 términos existentes en estas 4 comarcas se han investigado 21 términos, lo que representa el 40'38 %. En los 35 términos estudiados se han testado un total de 140 explotaciones, con un número final de 3.130 sueros analizados.

El muestreo que se ha llevado a cabo en la provincia de Cáceres (Tabla 15), ha sido menor que en la provincia de Badajoz, por ser mucho más limitada la presencia de explotaciones extensivas de cerdo ibérico en aquella, que en ésta.

De los 219 términos existentes en esta provincia, se han chequeado un total de 33 municipios distintos, lo que corresponde a un 15'06 % del total. Sin embargo, si nos centramos en las comarcas donde verdaderamente existen explotaciones extensivas, como son las comarcas de Cáceres y Valencia de Alcántara, de los 36 términos existentes, se han chequeado el 30'55 % de los mismos (11 términos). En los 33 términos estudiados en toda la provincia, se han analizado 65 explotaciones, con un total de 1.930 sueros.

3.1.4. - Cronología del muestreo.

Con el fin de obtener conclusiones relativas a la cronobiología de este parásito, se decidió obtener muestras durante todos los meses de un año completo. Concretamente, el período de recogida de muestras fue desde junio a mayo del siguiente año, ambos incluidos, y en el periodo final del anterior milenio. La recogida de muestras no fue homogénea debido a la dificultad derivada de la escasez de muestras de algunos términos. Se aceptaron todas aquellas que cumplieran los requisitos de raza y sistema de explotación, independientemente de la edad u otro parámetro. Como consecuencia de esta dificultad los resultados se correlacionaron con las temperaturas medias, máxima y mínima, pluviosidad y humedad de las dos provincias extremeñas.

Sin embargo, sí que existió homogeneidad en la cantidad de muestras recogidas en cada uno de los meses de estudio, ya que los animales fueron chequeados de manera habitual y de forma rutinaria en las distintas campañas de erradicación.

Únicamente, existió un incremento en la remisión de muestras al laboratorio, en los meses correspondientes a la salida y entrada en montanera, ya que según la normativa vigente, es obligatorio el chequeo de los animales antes de proceder a su movimiento. Dependiendo de la climatología del año, la entrada en montanera ocurre en periodos variables, ciñéndose normalmente a los meses de octubre y noviembre, mientras que la salida se produce en los de enero y febrero.

3.2.- METODOLOGÍA DIAGNÓSTICA.

3.2.1.- Sobre la elección del procedimiento diagnóstico.

La lucha contra las enfermedades está basada en su diagnóstico y erradicación. Para llevar a cabo esta tarea, se necesitan técnicas diagnósticas lo suficientemente rápidas, sensibles y específicas que nos permitan la detección de positivos y su posterior control.

En el capítulo 2.2.4. dedicado al diagnóstico de la parasitosis, puede comprobarse que son bastante numerosas las posibilidades diagnósticas que existen, si bien cada una de ellas está adaptada a determinados objetivos y tiene sus propias limitaciones.

El poder contar con una técnica que reúna las características de gran sensibilidad, alta especificidad, facilidad de automatización y bajos costos, es indispensable para la lucha contra las distintas enfermedades.

La utilización de la técnica Enzimo Inmuno Ensayo para el diagnóstico de enfermedades, se ha incrementado de forma evidente en los últimos años. Muchas de las técnicas analíticas tradicionales se basan en las características físico-químicas de la sustancia a determinar, por lo que a menudo, estos métodos presentan una especificidad y sensibilidad muy pobres.

Entre otras, las ventajas de la técnica ELISA podrían concretarse en:

- Los reactivos marcados son tremendamente estables.
- Los resultados pueden ser leídos visualmente o con un simple fotómetro.
- Es un test muy sensible debido a que los métodos del ensayo permiten la

MATERIAL Y MÉTODOS

degradación del sustrato por la enzima.

- Se pueden procesar y leer un gran número de muestras.

Quizás, la principal ventaja de la técnica ELISA es la amplificación de señales muy pequeñas mediante una reacción enzimática. Sin embargo, esto obliga necesariamente a la determinación de diversos parámetros, ya que en caso contrario la discriminación entre sueros positivos y negativos puede ser muy escasa.

En cuanto a sus inconvenientes, podría citarse que, en ocasiones los resultados de las condiciones óptimas de trabajo no son comparables con otros trabajos, incluso cuando el material y la metodología sean muy similares, lo cual obliga a homologar escrupulosamente la técnica y así conseguir superar este aspecto negativo de la misma.

3.2.2.- Test ELISA.

3.2.2.1.- Fundamento.

El ensayo inmunoenzimático ELISA se basa en el uso de antígenos o anticuerpos marcados con una enzima, de forma que los conjugados resultantes tienen actividad tanto inmunológica como enzimática. Al estar uno de los componentes (antígeno o anticuerpo) marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte, el complejo antígeno-anticuerpo queda inmovilizado y, por tanto, puede fácilmente ser revelado mediante la adición de un sustrato específico que, al actuar sobre la enzima, produce un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro o colorímetro.

El método ELISA indirecto está basado en los siguientes pasos:

1. Fijación de antígenos específicos para los anticuerpos objeto de estudio y posterior lavado para eliminar aquellos antígenos no fijados o fijados deficientemente.
2. Adición del suero problema. Sus inmunoglobulinas reaccionarán específicamente con los antígenos fijados. Lavado para eliminar los anticuerpos que no hayan reaccionado.

3. Adición de anti-inmunoglobulinas conjugadas con una enzima. Éstas reaccionarán con las inmunoglobulinas o anticuerpos específicos añadidos anteriormente, y que se encontrarán fijadas a los antígenos. Lavado para eliminar las anti-inmunoglobulinas marcadas que no hayan reaccionado.
4. Adición de un sustrato, sobre el cual sea capaz de actuar la enzima marcadora. Frenado de la reacción, si se estima conveniente en esta estandarización de la técnica.
5. Lectura visual y espectrofotométrica del producto final coloreado.

3.2.2.2. - Optimización (standarización).

La técnica ELISA que se ha utilizado en este trabajo, ha sido el ELISA indirecto estandarizado para esta parasitosis por el equipo de Parasitología y Enfermedades Parasitarias de la Facultad de Veterinaria de Cáceres (Frontera, 1998, 2000) (Figura 17).

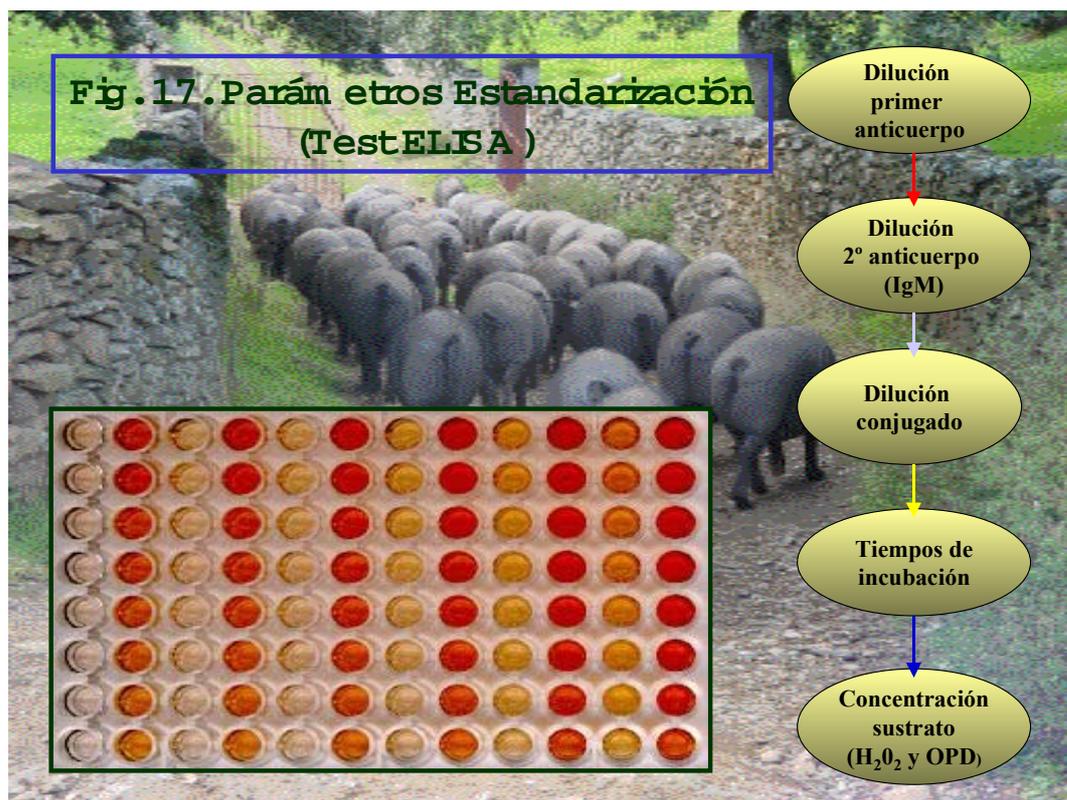
Para conseguir las condiciones adecuadas, se enfrentaron los distintos antígenos a sueros negativos y sueros hiperinmunes homólogos a distintas diluciones. Cada una de estas diluciones séricas se ensayaron frente a numerosas diluciones de conjugado.

En un segundo ensayo, y utilizando la dilución óptima de suero y conjugado determinada previamente, se enfrentaron sueros positivos y negativos frente a distintas concentraciones de sustrato (O.P.D y H₂O₂), realizándose lecturas aproximadamente cada 5 minutos, hasta llegar a los 70 minutos.

Aunque en todas las diluciones de suero y conjugado se obtuvo una gran diferenciación entre sueros positivos y negativos, las diluciones más bajas de suero y conjugado, produjeron un color de fondo excesivo en los sueros negativos, y en las más altas, la densidad óptica del suero positivo disminuyó ligeramente. Igualmente, un tiempo de lectura prolongado, produjo un color de fondo excesivo, haciendo variar ligeramente las diluciones de suero y conjugado óptimas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Finalmente, para la realización de este trabajo, y por tanto, para el análisis de los sueros, se creyó conveniente utilizar, entre todos los preparados antigénicos, el antígeno excretor-secretor larvario, obtenido por el Departamento de Parasitología de la Facultad de Veterinaria de Cáceres, mediante cultivo *in vitro* de larvas de *Ascaris suum*, procedentes de huevos embrionados y eclosionados experimentalmente, que es el que ofrece mayor sensibilidad y especificidad.



En conjunto, las modificaciones quedarían de la manera siguiente:

Concentración de antígeno: 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Dilución de los sueros controles y problemas: 1/600.

Dilución del conjugado: 1/8.000.

Concentración del sustrato (OPD): 1'8 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Concentración del H_2O_2 : 3 $\mu\text{l}/\text{ml}$.

Tiempo de lectura: 5 minutos.

3.2.2.3. - Reactivos utilizados.

Los más importantes fueron los siguientes:

- Para la adsorción del antígeno: tampón carbonato-bicarbonato (0'1 M, pH 9'6).

- Bicarbonato (CO_3HNa): 2'93 g.
- Carbonato disódico (CO_3Na_2): 1'59 g.
- H_2O destilada: 1 l.

Conservación a 4 °C.

- Para la dilución del sustrato: tampón citrato (pH 5).

- Ácido Cítrico monohidrato ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$): 5'85 g.
- Fosfato disódico dihidrato ($\text{PO}_4\text{HNa}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$): 11'07 g.
- H_2O destilada: 1 l.

Conservación a 4 °C.

- Para dilución de sueros y como sol. de lavado: Tampón fosfato PBS-Tw20 (pH 7'2)

- Fosfato potásico (KPO_4H_2): 0'2 g.
- Fosfato disódico dodecahidratado ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$): 2'9 g.
- Cloruro sódico (NaCl): 8 g.
- Cloruro potásico (KCl): 0'2 g.
- Tween-20: 0'5 cc.
- H_2O destilada: 1 l.

Conservación a 4 °C.

- Ortophenildiamina (OPD): 1'8 mg/ml. Comercializado por Sigma-Aldrich.

- Peróxido de Hidrógeno (agua oxigenada) de 10 volúmenes (H_2O_2).

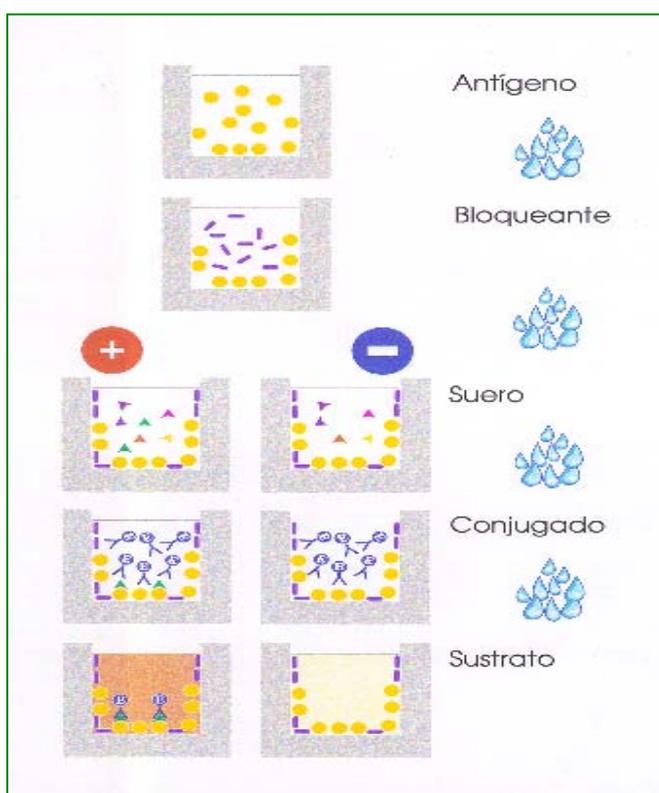
- Conjugado: inmunoglobulinas IgG anticerdo obtenidas en conejo y conjugadas con peroxidasa. Comercializado por Sigma-Aldrich.

MATERIAL Y MÉTODOS

3.2.2.4. - Desarrollo de la Técnica.

Se emplea el método micro-ELISA indirecto (Fig. 18). Para su realización se utilizan placas de poliestireno de 96 pocillos, de fondo plano y unos 350 μ l de capacidad. La sensibilización de las placas se realiza mediante adición en cada pocillo de 100 μ l de antígeno disuelto en tampón carbonato-bicarbonato 0'1M y pH 9'6. A continuación las placas se incuban durante tres horas a 37 °C o durante toda la noche (18-24 h) a 4 °C para permitir la adsorción del antígeno a las paredes del pocillo. La fijación del antígeno se produce mediante una acción electrostática pasiva favorecida por determinadas condiciones químicas.

Fig. 18. Esquema del método ELISA



Tras este período, el exceso de antígeno no fijado es arrastrado por una solución PBS 0'01 M y pH 7'2 con Tween-20 al 0'05% (Tw 20), utilizando para ello un equipo automático, realizándose tres lavados de unos diez segundos. Seguidamente, las placas son sacudidas enérgicamente sobre un papel de filtro para eliminar las gotas de líquido de lavado que pudieran permanecer en los pocillos.

Con objeto de tapizar perfectamente las zonas de los pocillos que no han sido recubiertas por antígeno y evitar adsorciones inespecíficas de inmunoglobulinas, se depositan 200 μ l de seroalbúmina bovina (BSA) al 5 %, en PBS estéril de pH 7'2 con Tw- 20, incubándose las placas a 37 °C durante media hora. Inmediatamente después se someten a un nuevo proceso de lavado.

Las placas con el antígeno adsorbido se conservan a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de su utilización. Para ello, se introducen en bolsas de plástico cerradas herméticamente mediante termosellado, pudiendo permanecer en estas condiciones durante varios meses.

En el momento de la ejecución de la técnica, las placas se extraen del congelador y se mantienen a temperatura ambiente durante 10 ó 15 minutos. Mientras tanto, en una placa auxiliar se realizan las diluciones de los sueros. Para ello, se deposita en todos los pocillos de la placa auxiliar 300 μl de PBS-Tw 20, añadiendo posteriormente 5 μl de los sueros problemas y controles, con lo que se obtiene una dilución 1/60. A continuación, y previa agitación de las placas, con una pipeta multicanal se procede a tomar la cantidad de 10 μl de esta dilución, que se deposita en la placa antigenada, a la cual previamente se le había añadido 90 μl de PBS-Tw 20, consiguiendo así la dilución final 1/600. Lógicamente, cada vez que este proceso de transferencia se realiza, las puntas de la micropipeta multicanal deben sustituirse para evitar la mezcla de unos sueros con otros.

Una vez realizada la dilución de los sueros, y depositados éstos en las placas antigenadas, según indica la Fig. 19, se someten a un período de incubación de 45 minutos a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, período tras el cual son lavadas, para añadir después, 100 μl de conjugado antiespecie (anti-IgG porcinas conjugadas con peroxidasa.) a la concentración idónea. Posteriormente, se somete a una nueva incubación a 37°C durante 45 minutos, y después, a un nuevo proceso de lavado para eliminar las inmunoglobulinas marcadas que no hayan reaccionado con el complejo antígeno-anticuerpo.

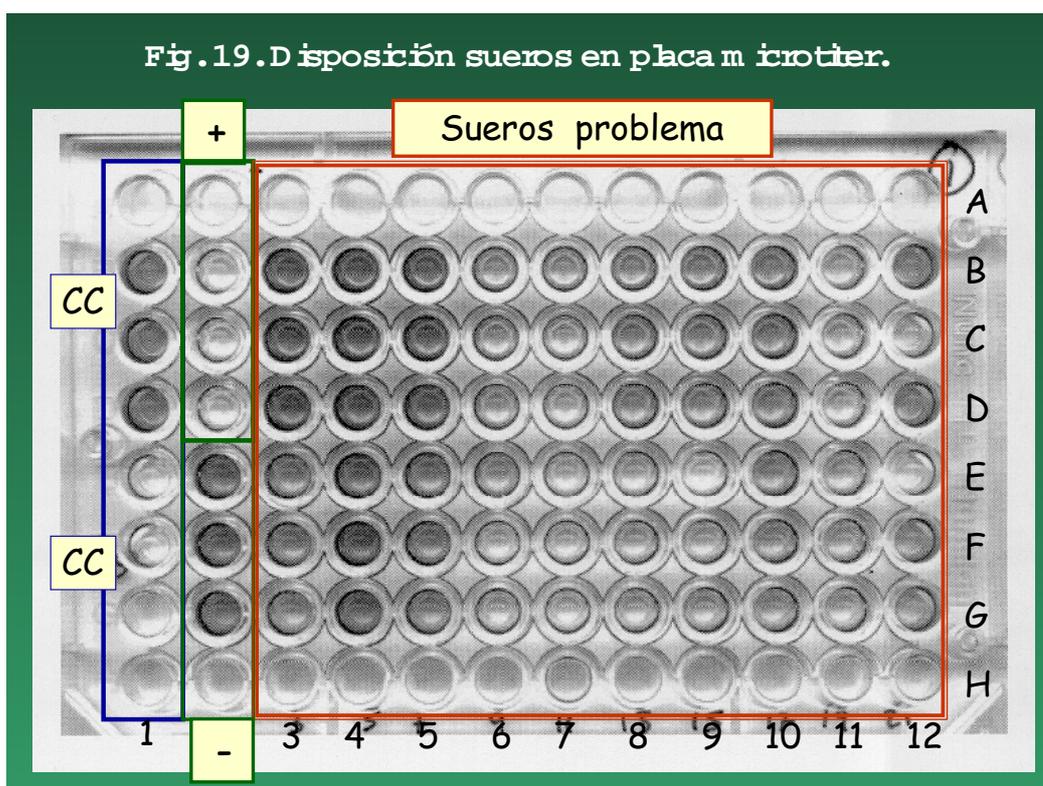
Finalmente, se añaden 100 μl de sustrato. El sustrato (incoloro o ligeramente amarillento), en presencia de peroxidasa toma color anaranjado intenso o rojizo, con una intensidad proporcional a la cantidad de anticuerpos fijados al antígeno. Es recomendable elaborar el sustrato momentos antes de su uso. Dependiendo de la temperatura a la que esté el tampón citrato, la reacción será más o menos rápida. Por supuesto, el H_2O_2 se añade al sustrato justo en el momento antes de ser dispensado éste a las placas. En nuestro caso, para que la reacción no fuera excesivamente rápida, manteníamos el tampón citrato a temperatura de refrigeración.

MATERIAL Y MÉTODOS

Una vez depositado el sustrato en las placas, no se procedió, en nuestro caso, al frenado de la reacción con H_2SO_4 3N, sino que la reacción fue leída, exactamente a los 5 minutos de haber comenzado el proceso, momento en que tras la optimización de la técnica, conocimos se alcanza la mayor nitidez y diferenciación de coloración entre sueros positivos y negativos. La lectura se realiza en espectrofotómetro, con filtro de 450 nm de longitud de onda, después de haber observado a simple vista si existen errores o coloraciones anormales. La coloración de fondo obtenida se elimina mediante sustracción de la densidad óptica obtenida en el blanco, de la obtenida en cada una de las diluciones séricas ensayadas.

La Fig. 19 muestra la disposición de sueros y controles en cada placa.

Como control del conjugado **CC**, se utilizó la primera columna de ocho pocillos a la que no se añadió suero problema, siendo éste sustituido por PBS con Tw-20 y continuando los demás pasos rutinariamente. Este control nos da información sobre numerosos errores de procedimiento (procesos de lavado inadecuado, reactivos en mal estado, etc.).



En cuanto al control del suero positivo, + se utilizó un suero positivo conocido de referencia (obtenido experimentalmente mediante inmunización de cerdos en la granja de la Facultad), dispuesto en cuatro pocillos en las posiciones A2, B2, C2 y D2 de la placa, que nos garantiza que la técnica está bien realizada.

Respecto al control del suero negativo, - se utilizó un pool de sueros negativos conocidos (animales de corta edad sangrados después de comprobar la ausencia de formas parasitarias en los mismos), ubicado en cuatro pocillos con localización en las posiciones E2, F2, G2 y H2 de la placa. Al igual que el control positivo, la repetitividad de su lectura garantiza la correcta realización de la técnica.

El resto de pocillos, Sueros problema en número de ochenta, se destinaron a las muestras a analizar, dispuestas en dobles pocillos, con objeto de controlar posibles errores de técnica que se puedan cometer.

En la interpretación de los resultados, y en el supuesto de que la distribución del número de cerdos pueda considerarse estadísticamente normal, se puede aplicar un límite diagnóstico basado en la media y desviación estándar (DS). Así se ha calculado el límite diagnóstico que excluye teóricamente el 99 % de la población de sueros negativos con la fórmula $\bar{X} + 3DS$, que corresponde a la media de los controles negativos más tres veces la desviación estándar. Es evidente que si tomamos este valor de corte, estamos dirigiendo nuestros resultados hacia valores muy altos de sensibilidad, con lo cual asumimos la posibilidad de la presencia de numerosos falsos positivos. Como con este límite solo se tiene en cuenta el valor del control negativo y nunca el del control positivo, se cometen errores que varían de una placa a otra. Para evitar esto, ese límite diagnóstico basado en la D.O. fue corregido calculando qué % de reactividad se corresponde con la $\bar{X} + 3DS$, obteniendo así otro punto de corte. Para ello, cada valor de $\bar{X} + 3DS$ en cada placa se transformó en %EIA teniendo en cuenta la media de la D.O. de los sueros controles negativo y positivo de cada placa. La media de los valores (%EIA) obtenidos en cada placa fue del 24 %.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se decidió también en este trabajo, convertir los datos de densidad óptica en porcentajes de reactividad individuales y así poder establecer otros niveles de corte sobre la base de una selección de datos correspondientes a sueros conocidos de lechones negativos. Sobre esta base, la media más 3 DS dio un valor del 41'13 %, con lo cual se puede afirmar con un 1 % de error, que los negativos no deben superar un valor superior al 41 % de reactividad. Por otro lado, ya que el 95'39 % de los animales en edad de recrío tienen < 20 % EIA, se estableció un cut-off del 20 % EIA con un nivel de confianza del 95 %. El % de reactividad se obtuvo mediante la fórmula:

$$\% \text{ EIA} = \frac{(\text{DO muestra} - \text{DO control negativo})}{(\text{DO control positivo} - \text{DO control negativo})} \times 100$$

De esta manera, con el % EIA se compensan los errores debidos a la variación en placa ya que no se toma una medida absoluta (DO) sino relativa (reactividad respecto al control). Por tanto el valor absoluto (DO) que en cada caso toma el control no tiene importancia ya que se convierte siempre a 0 % para el control negativo y a 100 % para el control positivo.

Por tanto, se optó por dar tres valores de seroprevalencias basados en tres puntos de corte que fueron el 20, 24 y 40 %.

3.3. - MEDIOS INSTRUMENTALES.

Para la realización de las actividades llevadas a cabo durante el presente trabajo se utilizaron los siguientes medios:

3.3.1. - Medios laboratoriales.

- Estufa de incubación de CO₂ Forma Scientific Mod. 3.862.
- Centrifuga refrigerada Kubota Mod. 5.800.
- Centrífuga de sobremesa analógica Selecta Mixtasel 7.000.575.
- Centrífuga Sigma Laborzentrifugen 6-10.

- Balanza de precisión Cobos C-3.000.
- Lector de placas ELISA Titertek Multiskan Plus. MKII. Cultek Biotecnología.
- Lector de placas ELISA Multiskan Ascent. Labsystems.
- Lavador de placas Titertek Microplate Washer 120. Cultek Biotecnología.
- Dispensador de placas Labsystems multidrop.
- Placas de poliestireno microtiter ELISA de alta afinidad (Costar).
- Cabina de incubación Braun Mod. Certomat-HK.
- Agitador orbital Braun Mod. Certomat-R.
- Agitador de placas KS250 basic. IkaLabortechnik. Agem.
- Pipetas automáticas monocanal 1-10 μ l, 5-100 μ l, 5-50 μ l, 1-5 ml. Gilbson, Socorex. Eppendorf, Finnpiet.
- Pipetas automáticas multicanal 5-100 μ l, 5-50 μ l. Gilbson, Socorex. Eppendorf, Finnpiet.

3.3.2.- Medios fotográficos.

- Cámara fotográfica Cannon T-70.
- Objetivo Cannon (Zoom 35-70 mm).
- Teleobjetivo Tamroom (Zoom 70-210 mm).
- Filtros UV y polarizador.
- Lentes de aproximación 1x, 2x y 3x.
- Flash Metz con difusor.

3.3.3.- Medios informáticos.

En la realización de las gráficas, escritura e impresión del presente trabajo, se han utilizado diferentes útiles informáticos, tales como:

- Ordenador PC clónico con microprocesador Intel Pentium II 350 Mz.
- Ordenador HP Vectra XA, Intel Pentium II 400 Mz.
- Scanner Epson GT-700.
- Impresora Hewlett-Packard (HP) Deskjet 710 C.
- Impresora Hewlett-Packard (HP) Laserjet 5 L.
- Impresora Epson stylus color 640.
- Paquete informático Office 2000. (Para el tratamiento de textos, base de datos, hoja de cálculos y presentación).
- Harvard Graphic 3.0 (Para la confección de los gráficos).
- Statistica 4.0 (Para el tratamiento de datos estadísticos).
- Micrografx Photomagic y Adobe Photoshop 4.0 (Para el tratamiento de imágenes).

3.4. - MÉTODOS ESTADÍSTICOS.

Con el fin de detectar asociaciones entre parámetros, se emplea una matriz de correlación entre variables a partir del coeficiente de correlación (r) de Pearson. Para la correcta estimación de la significación de éste, se indica a modo orientativo el valor de " r " en que $p = 0,05$.

Además, los resultados se procesaron para comprobar la existencia de diferencias significativas entre los diferentes grupos de datos establecidos mediante análisis de varianza de una vía, anotándose la probabilidad de error de la hipótesis nula (p) en cada caso. También se realizó comparación post hoc para diferencias específicas entre pares de datos, usando los tests F de Ryan-Einot-Gabriel-Welsch, el de Newman-Keuls y de Duncan. El nivel de significación ha sido establecido como $p < 0,05$. Todos los cálculos fueron llevados a cabo usando el paquete estadístico SPSS 10,0.



RESULTADOS

4.1.- ESTABLECIMIENTO DE LÍMITES DIAGNÓSTICOS. RESULTADOS GLOBALES DEL ESTUDIO.

En una primera aproximación a los resultados obtenidos en este trabajo de Tesis, queremos ofrecer, primeramente, unas cifras básicas, que nos servirán de orientación a todo lo largo de la exposición de resultados. En primer lugar, sobre el establecimiento de límites diagnósticos, se circunscribe el rango de valores negativos y, después, aquellos, a partir de las cuales, los valores se consideran positivos. Posteriormente, se establece el valor medio del control positivo, como prueba y contrastación en cada placa de pocillos, observándose suficiente diferencia entre el valor de éste y el correspondiente al del punto de corte que establecemos.

Como ya se explicó en el capítulo correspondiente a Material y Métodos, se han establecido dos posibilidades de límites diagnósticos. El primero de ellos está basado, en el valor de la densidad óptica (D.O.), considerando positivos aquellos sueros que superan el valor medio del control negativo más tres veces la desviación estándar ($\bar{X} + 3DS$). Este límite solo tiene en cuenta el valor del suero control negativo, por lo que los resultados ofrecen una cierta imprecisión al no estar corregidos los errores placa a placa. Para evitar esto, se optó por la corrección de dicho límite, transformando ese punto de corte en su correspondiente %EIA. Esta correspondencia se estableció en un valor del 24 %.

El otro criterio para establecer el límite diagnóstico, está basado en el %EIA (porcentaje de reactividad de cada suero en referencia a los controles negativos y positivos usados en cada placa). En este caso, se establecieron dos puntos de corte, en el 20 y 40 %, considerando como negativos aquellos sueros que obtienen valores por debajo del 20 %, y como positivos, los que obtienen valores por encima del 40 %. El grupo de sueros con reactividades entre el 20 y el 40 % se catalogó como dudosos o de positividad débil. De esta manera y dependiendo de los fines diagnósticos, se puede optar por los límites del 20 ó 24 % en caso de preferir mayor sensibilidad, o bien por el límite del 40 %, mucho más exigente, que nos da mayor especificidad, con una clara disminución de los falsos positivos, si bien pudieron aparecer falsos negativos.

RESULTADOS

Así, la media de la D.O. del suero control negativo fue de 0'2. La desviación estándar (DS) de la media del suero control negativo se situó en un valor de 0'1. Respecto al valor de punto de corte (cut-off), correspondiente a la $\bar{X} + 3DS$ fue de 0'3. En cuanto a la D.O. del suero control positivo, ésta alcanzó un valor medio de 0'7 con una DS de 0'2. Con el punto de corte basado en la D.O. corregida, equivalente a sueros con una reactividad superior al 24 %, un total de 1.270 superaron el mismo.

Respecto al %EIA, para el total de las muestras analizadas, la media de reactividad fue de 8'8 con una DS de 38'9. En este caso, el número de sueros con valores inferiores al 20 %, es decir, valores claramente negativos, fue de 3.678, con un valor medio de 10'9 y una DS de 16'6. Aquellos sueros con reactividades entre el 20 y el 40 %, correspondientes a sueros de animales con una positividad débil o catalogados también como dudosos, fueron un total de 491, con una reactividad media de 29'5 y una DS de 5'7. Los sueros más reactivos, con porcentajes superiores al 40 %, es decir, sueros correspondientes a animales claramente positivos, fueron un total de 891, con una reactividad media de 75'8 y una DS de 30'3.

Finalmente, es preciso indicar que en los resultados referidos a las seroprevalencias obtenidas, se han anotado los tres puntos de corte, aportando con ello datos que pueden ayudar a la interpretación de las lecturas que sobre cada muestra se han observado. Este triple resultado no se oferta en situaciones concretas ya que, en estos casos, se pretende resaltar prevalencias reales en base a una mayor especificidad; en ellas, hemos mostrado solo el límite más exigente, aquél que está basado en el punto de corte del 40 %.

4.2.- DISTRIBUCIÓN DE MUESTRAS Y RESULTADOS SEGÚN LOS GRUPOS DE EDAD.

Evidentemente, existen muchos factores que inciden directamente sobre la seroepidemiología de esta enfermedad. Sin embargo, creemos que en nuestro estudio, al tratarse de un muestreo no homogéneo, el factor más influyente ha sido la edad de los cerdos analizados. Por eso, hemos creído conveniente dedicar un capítulo a este factor, a sabiendas de que se adelantan resultados

parciales, que luego se estudian con mayor profundidad, como son los correspondientes a distribución geográfica o temporalidad del muestreo.

Hemos analizado un total de 5.060 sueros sanguíneos de porcino ibérico de Extremadura, repartidos en las siguientes cifras según los tres grupos de edad en los que hemos estructurado la cabaña porcina, el recrío o animales jóvenes, el cebo, o animales adultos y los reproductores. Desde el punto de vista epidemiológico, posiblemente son esos factores los más importantes en la distribución de la enfermedad, ya que se desplazan por los distintos habitáculos y parcelas de la explotación. De entre todas las muestras estudiadas, 1.988 pertenecieron a la edad de recrío, lo que representa el 39'3 % de los animales estudiados, 2.614 a animales en cebo (el 51'7 % de los sueros sometidos a análisis) y 458 (9 %) a reproductores. Estos porcentajes, son fiel reflejo de las cantidades existentes de cada uno de estos tipos de edad en la cabaña porcina ibérica de Extremadura. Por ello, el muestreo realizado, se convierte en una operación ajustada y correctamente planteada.

Respecto a la distribución geográfica de dichos sueros, en la provincia de Badajoz se testaron 3.130 muestras; entre ellas, 1.424 sueros correspondieron a animales de recrío, 1.423 a animales en cebo y 283 sueros, a reproductores de ambos sexos. En la provincia de Cáceres, fueron analizadas 1.930 muestras, de las cuales, 564 procedían de animales de recrío, 1.191 del total de muestras examinadas correspondían a animales adultos en cebo y, por último, 175 habían sido extraídas a reproductores.

Sobre el total de muestras (N = 5.060) la media del % EIA detectada para los animales de recrío fue sensiblemente inferior a las obtenidas para los de cebo y reproductores (Tabla 16), alcanzando valores medios negativos que nos indican la escasa reactividad de los sueros de los animales más jóvenes.

Tabla 16. Reactividad de los sueros según las distintas edades			
EDAD	EIA (n)	EIA (\bar{X})	EIA (DS)
Recrío	1.988	-4'3	29'0
Cebo	2.614	17'0	41'8
Reproductores	458	19'5	43'2
TOTAL	5.060	8'8	38'9

RESULTADOS

Como se puede ver en la Tabla 16, el conjunto general de los sueros pertenecientes a la edad de recrío alcanza un valor medio muy bajo (- 4'3). Este valor disminuye aún más en zonas de baja prevalencia, como ocurre en la provincia de Cáceres en general, donde el 94'8 % de los sueros de los animales más jóvenes obtienen un valor medio de reactividad de - 19'7. En cuanto al % EIA de los animales de cebo y reproductores, se ha situado en 16'9 y 19'5 respectivamente. Estos valores medios se incrementan sensiblemente en zonas de alta prevalencia como en la comarca de Jerez de los Caballeros, donde los animales de cebo con porcentajes EIA superiores al 40 % alcanzaron un valor medio de reactividad de 85'4. Estas observaciones se hacen patentes en la figura 20 donde además se detalla la frecuencia esperada para cada edad.

En la provincia de Badajoz, la Tabla 17 nos muestra cómo las medias de las reactividades obtenidas en los sueros con porcentajes menores del 20 % se mantienen en valores negativos para todas las edades. Es de significar que los animales con un % EIA superior al 40 %, han mantenido valores muy altos, superiores al 70 %, también en todas las edades.

Tabla 17. Reactividad de los sueros de la provincia de Badajoz.

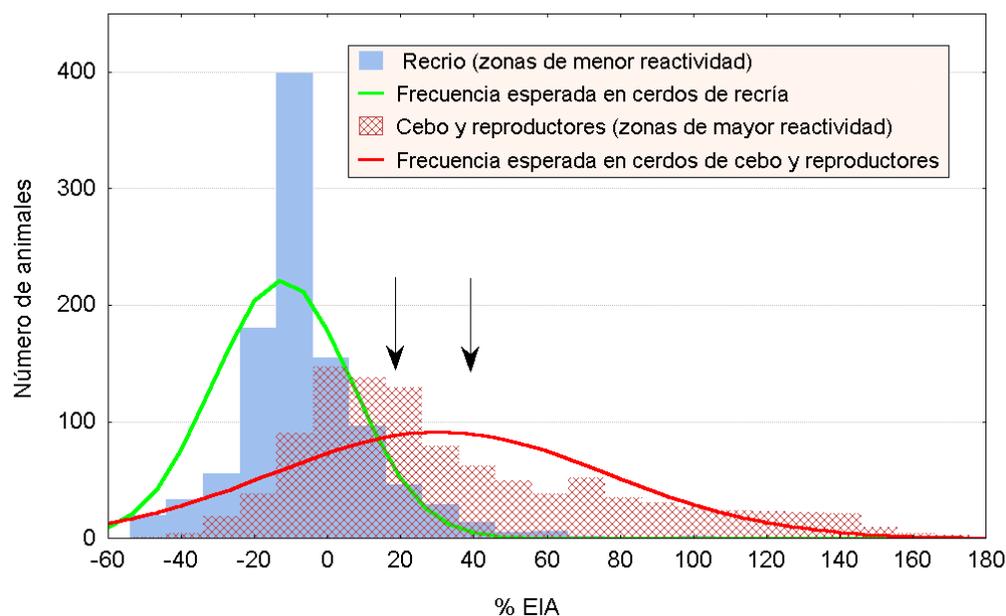
	Recrío			Cebo			Reproductores		
	EIA (n)	EIA (\bar{X})	EIA (DS)	EIA (n)	EIA (\bar{X})	EIA (DS)	EIA (n)	EIA (\bar{X})	EIA (DS)
<20%	1169	-10'5	16'2	831	-6'5	15'2	144	-4'0	16'8
20-40%	116	28'5	5'9	184	29'2	5'9	42	30'2	5'6
>40%	139	70'9	25'7	408	83'0	33'0	97	75'9	29'6

En la provincia de Cáceres, se puede observar en la Tabla 18 que, al igual que ocurría en Badajoz, los sueros con reactividades menores del 20 % toman valores negativos en todas las edades pero de forma más acusada aún.

Tabla 18. Reactividad de los sueros de la provincia de Cáceres.									
	Recrío			Cebo			Reproductores		
	EIA (n)	EIA (\bar{X})	EIA (DS)	EIA (n)	EIA (\bar{X})	EIA (DS)	EIA (n)	EIA (\bar{X})	EIA (DS)
<20%	535	-19'7	15'3	869	-9'3	16'8	130	-13'5	18'8
20-40%	21	29'2	5'7	107	30'1	5'7	21	29'2	5'4
>40%	8	59'6	17'6	215	71'4	27'5	24	85'0	42'4

Aquellos sueros provenientes de animales que podíamos considerar dudosos o con una débil positividad mantienen una media de reactividad para todas las edades similar en ambas provincias.

Figura 20. Distribución de frecuencias en zonas de alta y baja prevalencia.



Prácticamente la totalidad de los animales de recría se sitúan en niveles de reactividad por debajo del 20 % (Fig. 20), es decir, en niveles considerados como negativos, dada la mayor facilidad en su sistema de manejo, así como debido a su protección pasiva procedente de la madre. Por eso, las diferencias entre el grupo de los animales de recría con el resto de

RESULTADOS

edades son muy significativas ($p < 0'0001$). Sin embargo, por la misma razón, no existen diferencias significativas entre los grupos de cebo y reproductores ($p = 0'17$).

Respecto a la seroprevalencia obtenida, los índices más altos los poseen los animales reproductores y en edad de cebo, y dependiendo del límite diagnóstico elegido, los resultados por edades para la región de Extremadura (Tabla 19) se cifran entre un 17'6 y un 27'3 %. Como se puede ver, la cifra más baja de las registradas corresponde al recrió (7'4-14'3), seguida muy de lejos, por los datos procedentes del cebo (23'8-35'0) y reproductores (26'4-40'2), con lo que podemos comprobar que las cifras señaladas para la seroprevalencia de recrió, representan menos de un tercio que las observadas en animales de mayor edad (cebo y reproductores). Es evidente que, a la vista de estos resultados, el límite establecido en reactividades superiores al 20 % se sitúa en niveles muy próximos al basado en la densidad óptica corregida.

Tabla 19. Seroprevalencias obtenidas en Extremadura según edades				
	N	Seroprevalencia (%)		
		>20 %	>24 %	>40 %
Recrió	1.988	14'3	12'3	7'4
Cebo	2.614	35'0	32'5	23'8
Reproductores	458	40'2	37'8	26'4
TOTAL	5.060	27'3	25'1	17'6

Los resultados por edades respecto a las dos provincias extremeñas siguen mostrando las mismas diferencias entre el recrió y el resto de animales. Sin embargo, mientras en Badajoz la máxima seropositividad corresponde a los reproductores, en Cáceres, corresponde a los de cebo (Tabla 20).

Tabla 20. Seroprevalencias obtenidas por provincias según edades.

BADAJOZ				
	N	Seroprevalencia %		
		>20%	>24 %	>40%
Recrío	1.424	17'9	15'4	9'8
Cebo	1.423	41'6	38'2	28'7
Reproductores	283	49'1	47'0	34'3
TOTAL	3.130	31'5	34'6	20'6
CÁCERES				
Recrío	564	5'1	4'4	1'4
Cebo	1.191	27'0	25'9	18'0
Reproductores	175	25'7	22'9	13'7
TOTAL	1.930	20'5	19'3	12'8

4.3. - RESULTADOS SEGÚN TEMPORALIDAD DE MUESTREO.

Las muestras fueron recogidas a lo largo de los 12 meses del año. Para el total de la región de Extremadura, el número medio de muestras por mes fue de 421'6. El menor número de las mismas se obtuvo en el mes de diciembre con un total de 175 y el número máximo en el mes de octubre con un total de 826, mes en el que generalmente ocurre la entrada de los cerdos en montanera.

Respecto a Badajoz, la media por mes fue de 260'8 muestras recogidas. El menor número de muestras se obtuvo en este caso, en el mes de junio con un total de 54 y el número máximo también en el mes de octubre (478). En la provincia de Cáceres, el número medio por mes fue de 160'8 y el mes menos muestreado correspondió al mes de agosto, con un total de 55. En esta provincia el número máximo correspondió al mes de enero con un total de 368 (mes en el que dependiendo de la climatología, suele acabar el período de montanera), seguido muy de cerca del mes de octubre con 348.

En la Tabla 21 se observa que la mayor reactividad de los sueros se presenta en los meses de octubre, noviembre, diciembre y enero. Los % EIA

RESULTADOS

más bajos corresponden al mes de junio, alcanzando también reactividades mínimas (muy próximas al control negativo) los meses de febrero y marzo.

Tabla 21. Reactividades obtenidas en los distintos meses del año	
Mes	% EIA
Enero	22'9
Febrero	0'4
Marzo	1'6
Abril	4'8
Mayo	6'5
Junio	-0'9
Julio	5'5
Agosto	7'3
Septiembre	5'7
Octubre	11'7
Noviembre	16'6
Diciembre	12'9
Reactividad anual (\bar{X})	8'8

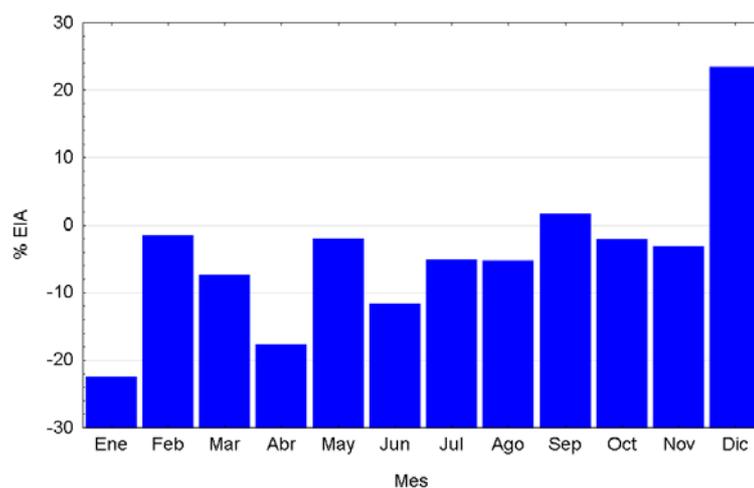
Considerando la totalidad de las muestras analizadas, existen diferencias significativas ($p < 0'05$) entre, prácticamente, todos los meses. Sin embargo, es necesario señalar que enero y noviembre son aquellos en los que encontramos las diferencias más significativas con respecto al resto del año.

En el caso del recrió (Tabla 22, Figura 21), la tónica general en todos los meses fue la oscilación alrededor de valores negativos, correspondiendo los valores más bajos a los meses de enero, marzo y junio. Encontramos como excepción el mes de diciembre, que alcanzó niveles considerables de más del 23 %, al tratarse posiblemente de animales de recrió en fase de transición, próximos a ser considerados de cebo.

Tabla 22. Reactividades por grupos de edad en los distintos meses.										
Mes	Recrío			Cebo			Reproductores			EIA (N)
	EIA (n)	EIA (\bar{X})	EIA (DS)	EIA (n)	EIA (\bar{X})	EIA DS	EIA (n)	EIA (\bar{X})	EIA (DS)	
Enero	175	-22'5	21'9	361	45'4	54'3	35	17'3	21'2	571
Febrero	161	-1'5	34'2	175	2'1	33'5	0	0	0	336
Marzo	99	-7'5	23'4	225	5'1	42'5	0	0	0	324
Abril	70	-17'7	38'5	200	10'0	30'7	9	64'0	76'4	279
Mayo	227	-1'9	26'8	222	14'2	36'0	8	32'8	50'4	457
Junio	20	-11'6	7'0	202	2'5	29'6	68	-7'9	37'2	290
Julio	145	-5'1	20'8	233	1'1	33'4	139	24'0	39'2	517
Agosto	199	-5'3	31'0	50	32'3	49'2	93	20'9	53'9	342
Septiembre	359	1'6	32'8	167	11'0	32'1	26	27'1	20'6	552
Octubre	424	-2'1	27'1	392	25'5	40'1	10	59'2	30'2	826
Noviembre	84	-3'1	9'6	260	22'5	39'2	47	19'0	37'4	391
Diciembre	25	23'4	26'2	127	8'6	34'5	23	25'3	34'9	175
Total	1.988	-4'3	29'0	2.614	17'0	41'8	458	19'5	43'2	5.060

Los cerdos más jóvenes presentaron un comportamiento muy distinto en los meses de enero, abril y sobre todo en diciembre ($p < 0'05$) con respecto al resto de meses.

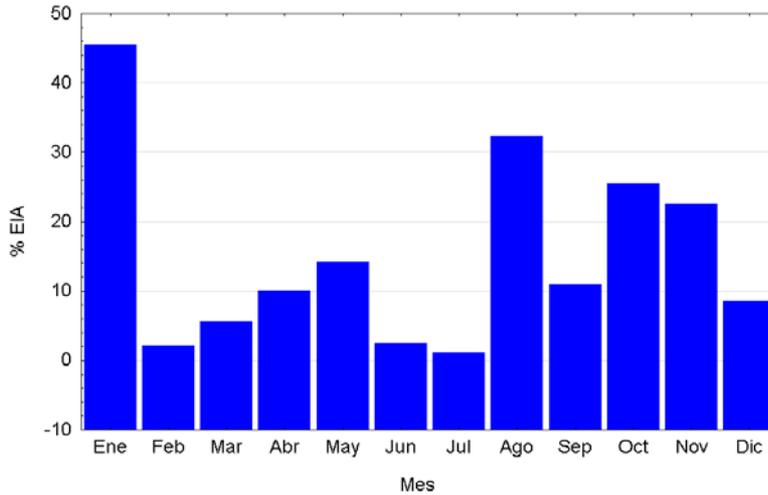
Fig. 21. Reactividad obtenida en el recrío en los distintos meses del año.



RESULTADOS

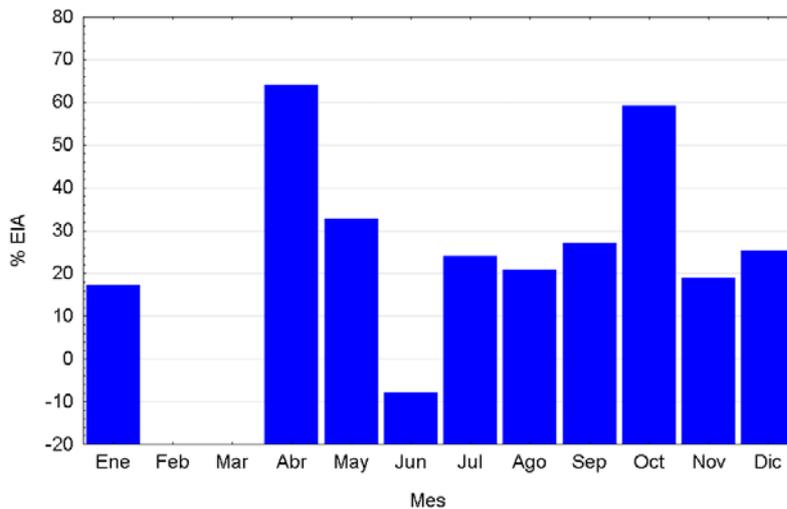
En los animales de cebo (Tabla 22, Figura 22), esas diferencias se hicieron patentes en los meses de enero, agosto, octubre y noviembre.

Fig. 22. Reactividad obtenida en el cebo en los distintos meses del año.



Finalmente, en el grupo de reproductores (Tabla 22, Figura 23) su reactividad fue similar para todos los meses del año, manteniéndose altos en todos ellos, con la excepción hecha del mes de junio, debido posiblemente a factores propios de explotación.

Fig. 23. Reactividad obtenida en los reproductores en los distintos meses del año.



En la Tabla 23 se han separado los resultados de reactividad obtenidos por los distintos sueros en cada mes del año, y todo ello visto por grupos de edad y por provincias.

En la provincia de Badajoz, todos los sueros procedentes de animales de recría muestran reactividades negativas en todos los meses del año, con la excepción de los meses de febrero, septiembre, octubre y diciembre, mes donde se alcanzan cifras importantes de reactividad para todos los grupos de edad. Los animales de cebo y reproductores alcanzan valores altos en todos los meses del año con la excepción del mes de junio.

En la provincia de Cáceres y en líneas generales, todos los meses del año muestran niveles de reactividad muy bajos, sobre todo en los animales de recría. Se observan niveles muy altos en los animales de cebo en enero y en los reproductores en el mes de abril.

Tabla 23. Reactividades obtenidas por provincias y grupos de edad en lo distintos meses del año

Meses	Recría		Cebo		Reproductores	
	BA	CC	BA	CC	BA	CC
Enero	-2'8	-23'3	46'4	44'2	0	17'3
Febrero	8'1	-24'0	19'1	-22'2	0	0
Marzo	-8'8	-3'4	19'4	-37'1	0	0
Abril	-17'7	0	19'4	-9'0	0	64'0
Mayo	-1'2	-12'8	29'1	0'5	0	32'8
Junio	-11'6	0	10'3	2'1	-2'6	-10'8
Julio	-5'1	0	2'0	-2'1	25'5	20'4
Agosto	-6'7	15'3	37'3	16'5	46'0	-31'8
Septiembre	9'2	-16'6	4'3	18'0	27'1	0
Octubre	7'1	-13'6	27'6	22'3	59'2	0
Noviembre	-3'1	0	42'8	10'7	21'8	3'3
Diciembre	23'4	0	14'8	1'7	25'3	0

RESULTADOS

Para mayor claridad, hemos creído interesante, separar los resultados para los tres grupos de edad calculados con un mismo criterio, separando así, el número de animales con resultado negativo, dudoso y animales claramente positivos (Tabla 24). En dicha Tabla se observa como el mayor número de animales para todos los meses del año se agrupa en reactividades menores del 20 %. En la edad de recrío existe prácticamente el mismo número de animales con reactividades entre el 20 y el 40 % que con reactividades superiores al 40 %, lo que nos indica que un número importante de los mismos (137) se podían catalogar como dudosos o animales con una positividad débil. No ocurre lo mismo para los otros dos grupos de edad, donde los animales claramente positivos son prácticamente el doble que los dudosos o débilmente positivos, lo que nos da idea de la positividad real de los animales adultos.

Tabla 24. Resultados obtenidos según los distintos porcentajes de reactividad

Meses	RECRÍO			CEBO			REPRODUCTORES		
	<20%	20-40%	>40%	<20%	20-40%	>40%	<20%	20-40%	>40%
Enero	170	3	2	128	45	188	20	9	6
Febrero	131	14	16	114	39	22	0	0	0
Marzo	88	5	6	156	27	42	0	0	0
Abril	61	4	5	141	20	39	5	0	4
Mayo	187	25	15	154	20	48	6	0	2
Junio	20	0	0	174	9	19	60	1	7
Julio	128	12	5	179	24	30	78	24	37
Agosto	175	9	15	20	7	23	50	9	34
Septiembre	277	36	46	122	14	31	14	7	5
Octubre	371	20	33	250	45	97	0	3	7
Noviembre	83	1	0	162	35	63	28	6	13
Diciembre	13	8	4	100	6	21	13	4	6
Total	1.704	137	147	1.700	291	623	274	63	121
	1.988			2.614			458		
	5.060								

En Extremadura, la Tabla 25 nos muestra que la seropositividad máxima alcanzada se localiza en el mes de enero, con un 34'3 %, con diferencias estadísticamente muy significativas ($p=0'0001$) con respecto a la mayoría del resto de meses. Por su parte, el porcentaje más bajo corresponde

al de junio con el 9'0 %, sin observarse diferencias significativas con el resto de meses, salvo con enero ($p=0'0001$), octubre ($p=0'0004$) y noviembre ($p=0'0001$). Dando a la técnica elevados niveles de sensibilidad al tomar como punto de corte el 20 %, los índices más altos de seroprevalencia los vuelve a obtener enero (44'3 %) y los más bajos, de nuevo el de junio (12'4 %). El resto de meses obtienen valores entre el 24'7 % de marzo y el 30'2 % de noviembre.

Si por el contrario, nos inclinamos hacia resultados con mayores niveles de especificidad, es decir, sueros de animales claramente positivos (reactividades superiores al 40 %), en este caso, siguen siendo los meses de enero (34'3) y junio (9'0) los meses con mayor y menor seroprevalencia respectivamente, pero el resto de meses no superan ninguno el 21'0 % del mes de agosto, mes que tampoco ofrece diferencias significativas con el resto, salvo con enero ($p=0'00006$) y noviembre ($p=0'01$).

Tabla 25. Seroprevalencias de Extremadura en los distintos meses del año

Mes	N	Seroprevalencia (%)		
		>20 %	>24 %	>40 %
Enero	571	44'3	43'1	34'3
Febrero	336	27'1	21'1	11'3
Marzo	324	24'7	22'2	14'8
Abril	279	25'8	23'6	17'6
Mayo	457	24'1	20'8	14'2
Junio	290	12'4	12'1	9'0
Julio	517	25'5	23'4	13'9
Agosto	342	28'4	27'2	21'0
Septiembre	552	25'2	21'9	14'8
Octubre	826	24'8	23'1	16'6
Noviembre	391	30'2	28'6	19'4
Diciembre	175	28'0	25,7	17'7
TOTAL	5.060	27'3	25'0	17'6

RESULTADOS

En la provincia de Badajoz (Tabla 26), los mayores índices de seroprevalencia se observan también en los meses más fríos, alcanzándose valores de seropositividad (>40%) que oscilan entre el 51'7 % del mes de enero, y el de 7'4 % del mes de junio.

Tabla 26. Seroprevalencias de la provincia de Badajoz en los distintos meses del año

Mes	N	Seroprevalencia %		
		>20 %	>24 %	>40 %
Enero	203	56'6	56'6	51'7
Febrero	216	36'6	28'7	15'7
Marzo	244	29'5	26'6	17'2
Abril	204	32'8	30'4	21'6
Mayo	318	30'2	25'5	16'7
Junio	54	13'0	13'0	7'4
Julio	425	25'6	23'8	14'8
Agosto	287	30'3	29'3	23'7
Septiembre	366	29'0	24'3	16'7
Octubre	478	29'5	27'0	20'5
Noviembre	220	30'0	28'6	21'8
Diciembre	115	35'6	32'2	20'9
TOTAL	3.130	31'5	28'6	20'6

Nos ha parecido conveniente reflejar en la Tabla 27, el número de animales de Badajoz, cuyos sueros han alcanzado reactividades superiores al 40 %, por ser éste, un límite mucho más exigente que nos aproxima a la positividad real de esta enfermedad. En dicha Tabla se observa de nuevo que, el mayor número de sueros con positividad clara, se obtiene de los animales adultos. Es importante también destacar el número de animales chequeados para cada edad, hecho que nos permite explicar, posiblemente, el elevado

índice de positividad del mes de enero, donde la mayoría de los animales chequeados (196) se correspondían con la edad de cebo.

Tabla 27. N° de animales positivos (% EIA >40) en la provincia de Badajoz según edades								
Mes	N			Total	N° de positivos con % EIA > 40			Total
	Rec.	Cebo	Rep.		Rec.	Cebo	Rep.	
Enero	7	196	0	203	0	105	0	105
Febrero	113	103	0	216	15	19	0	34
Marzo	74	170	0	244	2	40	0	42
Abril	70	134	0	204	5	39	0	44
Mayo	212	106	0	318	15	38	0	53
Junio	20	10	24	54	0	0	4	4
Julio	145	183	97	425	5	30	28	63
Agosto	186	38	63	287	14	20	34	68
Septiembre	254	86	26	366	46	10	5	61
Octubre	234	234	10	478	33	58	7	98
Noviembre	84	96	40	220	0	35	13	48
Diciembre	25	67	23	115	4	14	6	24
TOTAL	1.424	1.423	283	3.130	139	408	97	644

En la provincia de Cáceres, los porcentajes más elevados de seropositividad se detectan en los meses de enero y noviembre (Tabla 28), si bien en el primero de los meses, el número de animales chequeados en la edad de recría (168) es similar al de cebo (165) (Tabla 29). Las seroprevalencias se mantienen en general, en niveles más bajos que las obtenidas para la provincia de Badajoz, interesando destacar que el porcentaje menor corresponde al

RESULTADOS

mes de febrero con un 3'3 %, aún habiéndose analizado en este mes un número importante de muestras (72) correspondientes a la edad de cebo.

Tabla 28. Seroprevalencias en la provincia de Cáceres en los distintos meses del año

Mes	N	Seroprevalencias %		
		>20 %	>24 %	>40 %
Enero	368	38'6	35'6	24'7
Febrero	120	10'0	07'5	3'3
Marzo	80	10'0	08'7	7'5
Abril	75	6'7	05'3	5'3
Mayo	139	10'1	10'1	8'6
Junio	236	12'3	11'9	9'3
Julio	92	25'0	21'7	9'8
Agosto	55	18'2	16'4	7'3
Septiembre	186	17'7	17'2	11'3
Octubre	348	18'4	17'8	11'2
Noviembre	171	30'4	28'6	16'4
Diciembre	60	13'3	13'3	11'7
TOTAL	1.930	20'5	19'3	12'8

Finalmente, queremos destacar que las Tablas 26, 27, 28 y 29, nos orientan sobre los posibles errores que se cometen cuando las poblaciones muestreadas en los distintos meses, no son homogéneas, debido a la dificultad de obtención de muestras. Se muestran por tanto, más que nada, a título informativo, sabiendo que el factor edad tiene un peso específico muy grande que influye de manera evidente en los resultados según la temporalidad del muestreo.

Tabla 29. N° de animales positivos (% EIA>40) en la provincia de Cáceres según edades								
Mes	N			Total	N° de positivos con % EIA > 40			Total
	Rec.	Cebo	Rep.		Rec.	Cebo	Rep.	
Enero	168	165	35	368	2	83	6	91
Febrero	48	72	0	120	1	3	0	4
Marzo	25	55	0	80	4	2	0	6
Abril	0	66	9	75	0	0	4	4
Mayo	15	116	8	139	0	10	2	12
Junio	0	192	44	236	0	19	3	22
Julio	0	50	42	92	0	0	9	9
Agosto	13	12	30	55	1	3	0	4
Septiembre	105	81	0	186	0	21	0	21
Octubre	190	158	0	348	0	39	0	39
Noviembre	0	164	7	171	0	28	0	28
Diciembre	0	60	0	60	0	7	0	7
TOTAL	564	1.191	175	1.930	8	215	24	247

4.4.- RESULTADOS SEGÚN CLIMATOLOGÍA Y POBLACIÓN.

Como se citó anteriormente, las reactividades más altas se localizan en el mes de enero y en general en los meses más fríos. Por el contrario las reactividades más bajas se centran en los meses de calor.

No sólo las condiciones higiénicas juegan un papel importante en la epidemiología de la ascariosis porcina, sino también los factores climatológicos, mediante los cuales se facilita o dificulta el contagio entre los

RESULTADOS

distintos animales, ya que tanto de la temperatura como de la humedad, depende el larvado de los huevos y por tanto su capacidad de infección. En Extremadura, con altas temperaturas en verano y terrenos sin la cubierta herbácea que proteja los huevos de ascaris de los rayos solares, es fácil que éstos sean destruidos por desecación.

Es evidente por tanto, que existe una importante relación entre la ascariosis porcina y la climatología. En base a este hecho, hemos creído conveniente correlacionar en la Tabla 30, los valores meteorológicos de temperaturas (medias, máximas y mínimas), humedad relativa, lluvia (en mm) y días de lluvia de las distintas estaciones climatológicas de Cáceres y Badajoz, aplicados al conjunto de Extremadura, con los % EIA obtenidos.

Tabla 30. Valores de constantes meteorológicas y %EIA para los distintos meses del año.

Meses	T ^a \bar{X}	T ^a Máxima	T ^a Mínima	Lluvia (mm)	Humedad relativa (%)	Días lluvia	% EIA (\bar{X})
Enero	8'4	12'4	4'5	56'7	77'4	10'4	22'9
Febrero	9'8	14'6	5'1	61'8	74'2	10'1	0'4
Marzo	11'9	17'6	6'0	48'5	67'8	8'2	1'6
Abril	14'0	20'0	8'1	47'6	63'8	9'0	4'8
Mayo	17'7	24'4	11'1	32'4	57'6	6'5	6'5
Junio	21'8	28'3	15'4	28'7	47'7	4'8	-0'9
Julio	25'3	33'7	17'0	3'2	47'5	1'0	5'5
Agosto	25'1	33'6	16'6	6'0	47'6	1'0	7'3
Septiembre	22'4	29'6	15'4	24'0	53'0	3'8	5'7
Octubre	17'3	23'0	11'6	55'1	64'2	7'6	11'7
Noviembre	11'9	16'7	7'1	60'8	73'5	8'9	16'6
Diciembre	8'7	13'1	4'3	63'7	79'9	9'7	12'9
\bar{X}	16'8	22'8	10'7	40'0	62'2	6'6	8'8

Si además de los parámetros climáticos, se consideran los valores de censos porcinos y densidad de población (referidos a Oficinas Veterinarias de Zonas), y se correlacionan con los valores EIA, se observa en la Tabla 31 que la reactividad de los sueros está muy correlacionada sobre todo con la edad, censo y densidad de población. Existe también una correlación importante ($r=0.15$) con los datos referidos a humedad.

Tabla 31. Correlaciones entre diversos parámetros y la variable EIA									
	N= 5060 * Correlaciones significativas ($p<0.05$)								
Variable	Censo	Densidad	Edad	Temp	T. Máx	T. Mín	Lluvia	Humedad	Días Lluvia
EIA	0.2*	0.2*	0.2*	0.1*	0.1*	0.1*	0.1*	0.1*	0.1*

Dado que la edad es el factor que repercute con más intensidad en el %EIA, las restantes correlaciones podrían deberse a una cierta asociación con los grupos de edad. Sin embargo, la influencia de los factores censo, densidad y humedad relativa es apreciable, independientemente de la edad. Por ejemplo, la representación tridimensional de la relación entre la edad, humedad relativa y reactividad (Fig. 24), mostrada como una superficie calculada a partir de la nube de puntos resultante, permite apreciar claramente la influencia de cada factor. Puede observarse que, con una humedad relativa muy baja, la reactividad de la población tiende a bajar claramente, siendo más acusada esta tendencia a medida que se muestrean animales de mayor edad.

La observación detallada de la figura 24 y de la Tabla 32, nos permite corroborar asimismo que, según la edad, ciertas correlaciones cambian de sentido. Considerando sólo los animales de recría, la reactividad de los mismos aparece estrechamente relacionada con el censo y la densidad de animales ($r=0.34$), mientras no hay correlación con la humedad o pluviosidad. Sin embargo, en el caso del cebo está más relacionada con la humedad, aunque el censo muestra una correlación alta. En reproductores, la correlación con la humedad parece más discreta, pero esto puede deberse a una correlación no

RESULTADOS

lineal, ya que las reactividades más altas se encuadran con valores de humedad relativos medios.

Figura 24. Relación entre la edad, humedad relativa y reactividad

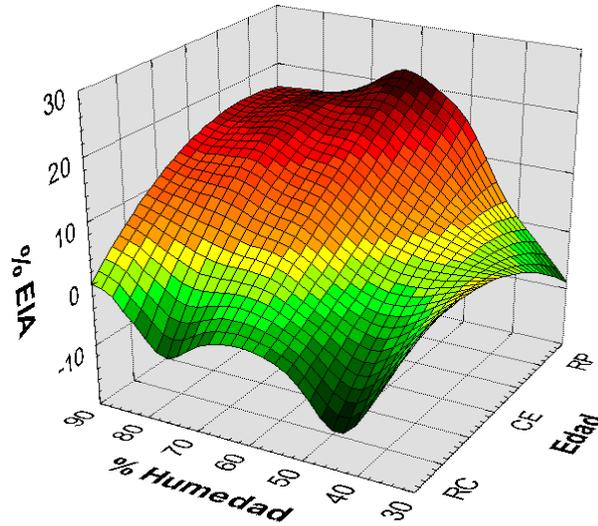
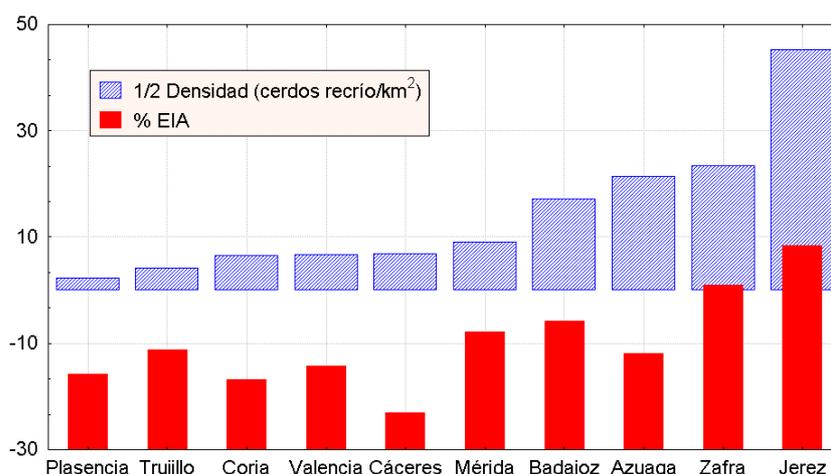


Tabla 32. Correlaciones entre diversos parámetros y la variable EIA por grupos de edad.

Recrió	N= 1988							
Variable	Censo	Densidad	Temp	T. Máx	T. Mín	Lluvia	Humedad	Días Lluvia
EIA	0'3*	0'3*	0'1*	0'1*	0'1*	-0'0	0'0	-0'1*
Cebo	N= 2614							
Variable	Censo	Densidad	Temp	T. Máx	T. Mín	Lluvia	Humedad	Días Lluvia
EIA	0'2*	0'2*	-0'1*	-0'1*	-0'2*	0'1	0'2*	0'1*
Reproductores	N= 458							
Variable	Censo	Densidad	Temp	T. Máx	T. Mín	Lluvia	Humedad	Días Lluvia
EIA	0'2*	0'2*	-0'1	0'0	-0'1	0'0	0'1*	-0'0

La correlación entre la edad y la densidad de los animales, se hace más evidente en la figura 25 donde se observa con claridad, en el caso de los animales de recría ($r=0'34$), la clara correlación positiva entre la densidad de población y la reactividad obtenida mediante el método ELISA, es decir, vemos cómo a mayor densidad, existen niveles más altos de reactividad.

Fig. 25. Correlación entre densidad de animales de recría y % EIA



4.5.- RESULTADOS SEGÚN LA DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.

4.5.1.- Resultados por Provincias.

Lógicamente y debido al estudio que se hace de los diversos factores que influyen en la seroepidemiología de la ascariosis porcina, en los puntos 4.2. y 4.3. se adelantaron los resultados parciales relativos a provincias, referidos a grupos de edad y meses del año. En este apartado, a modo de resumen, ofrecemos de manera global los resultados de seroprevalencias individuales para cada provincia y para el conjunto de la región. Se ofrecen también los resultados de seroprevalencias por explotaciones, así como las reactividades en base con los distintos porcentajes de EIA obtenidos.

RESULTADOS

En la Tabla 33 mostramos los resultados generales de seroprevalencias para cada provincia según los distintos puntos de corte. En cualquiera de ellos, los índices de reactividad son superiores en la provincia de Badajoz con respecto a la de Cáceres.

Tabla 33. Seroprevalencias obtenidas para cada provincia y el conjunto de Extremadura

ZONA DE ESTUDIO	Muestras (N)	Términos (n)	Explotaciones (n)	% SEROPREVALENCIA		
				> 20 %	> 24 %	> 40 %
Extremadura	5.060	68	205	27'3	25'0	17'6
Badajoz	3.130	35	140	31'5	28'6	20'6
Cáceres	1.930	33	65	20'5	19'3	12'8

Respecto a la reactividad media de los sueros, podemos observar en la Tabla 34, que el valor obtenido en la provincia de Badajoz (13'7) es claramente superior al obtenido en la provincia de Cáceres, cuya media del % EIA para el total de sueros se mantiene en niveles muy cercanos al control negativo (1'0). Los sueros con reactividad superior al 40 % alcanzan en ambas provincias un valor medio muy alto del 79'3 y 72'3 %, para Badajoz y Cáceres respectivamente.

Tabla 34. Reactividad de los sueros por provincias

PROVINCIA		EIA (n)	EIA (\bar{X})	EIA (DS)
BADAJOZ	Total BA	3.130	13'7	40'4
	< 20 %	2.144	-8'5	16'0
	20 % - 40 %	342	29'1	5'9
	> 40 %	644	79'3	31'4
CÁ CERES	Total CC	1.930	1'0	35'0
	< 20 %	1.534	-13'3	17'2
	20 % - 40 %	149	29'8	5'6
	> 40 %	247	72'3	29'2

Hemos creído también interesante, expresar los resultados que ambas provincias han obtenido, en este caso, referidos a explotaciones, considerando positivas, aquellas en las que al menos se ha diagnosticado un animal con reactividad superior al 40 %, límite muy exigente y que nos acerca a la realidad de positividad de las distintas explotaciones extremeñas.

De este modo, más de la mitad de las mismas, se han mostrado positivas (Tabla 35), lo que se traduce en una seroprevalencia por explotaciones del 55'1 % para el conjunto de la región. En la provincia de Badajoz se ha situado ligeramente (55 %) por debajo de los valores alcanzados por la provincia de Cáceres (55'4 %). En este caso por tanto, no han existido las diferencias tan acusables que se daban entre provincias cuando se estudiaban seroprevalencias individuales. Con límites de sensibilidad muy alta (>20 %), los valores de seroprevalencia se sitúan próximos al 70 %, cifra muy preocupante para la región extremeña.

Tabla 35. Seroprevalencias por explotaciones				
	Explotaciones (N)	Seroprevalencia %		
		> 20 %	> 24 %	> 40 %
Extremadura	205	67'3	63'4	55'1
Badajoz	140	66'4	61'4	55'0
Cáceres	65	69'2	67'7	55'4

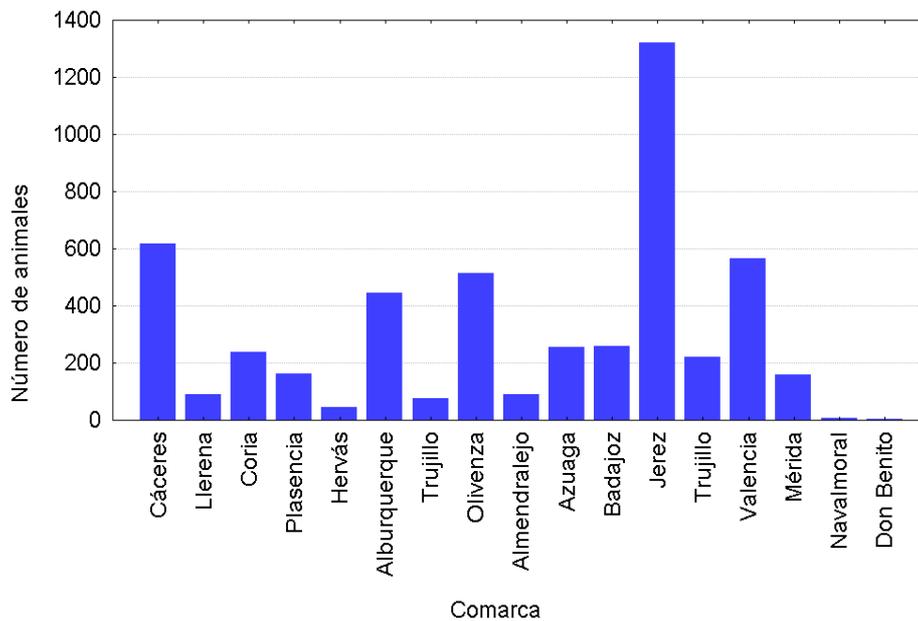
4.5.2.- Resultados por Comarcas.

Como ya se explicó adecuadamente en el capítulo de Material y Métodos, varias comarcas, tanto de Cáceres como de Badajoz, quedaron sin muestrear. Concretamente, en la provincia de Badajoz, no se obtuvieron muestras de las comarcas de Puebla de Alcocer, Herrera del Duque, Castuera y D. Benito, si

RESULTADOS

bien en este último caso sólo se chequeó una explotación situada en el término de Orellana la Vieja con un total de 2 muestras. En la provincia de Cáceres, quedaron sin estudiar las comarcas de Brozas, Logrosán y Jaraíz de la Vera. El número de sueros porcinos recogidos en cada comarca se representa en la figura 26, donde se puede observar la comarca de Jerez de los Caballeros, como la más muestreada, por ser ésta la que posee un mayor censo de animales que cumplen los requisitos exigidos en este trabajo.

Fig. 26. Número de animales estudiados en cada comarca



En cuanto a reactividad de los sueros, han obtenido valores medios por debajo del control negativo, las comarcas de Cáceres, Azuaga, Trujillo y sobre todo Hervás. Han sido muy bajos también los valores medios obtenidos para las comarcas de Plasencia, Almendralejo y Badajoz. Los niveles más altos los han alcanzado las comarcas de Jerez de los Caballeros (23'9 %), Alburquerque (14'1 %), Mérida 13'4 %) y Coria (12'2 %). Se desestiman los resultados de las comarcas de Navalmoral y Don Benito desde el punto de vista estadístico, por haber conseguido de ellas un escaso número de sueros. Estos valores y tendencias quedan recogidos en la Tabla 36 y figura 27.

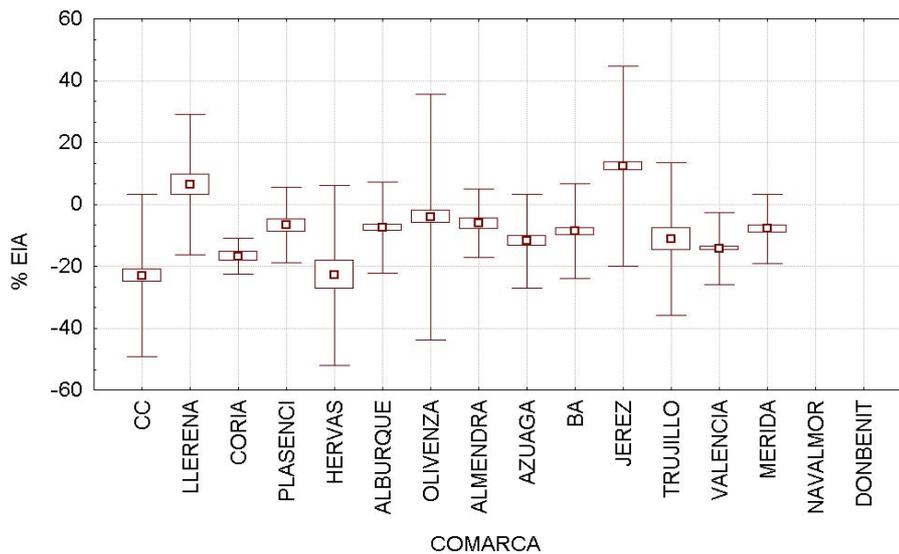
Tabla 36. Reactividades obtenidas en las distintas comarcas			
Comarca	EIA (n)	EIA (\bar{X})	EIA (DS)
Alburquerque	446	14'1	38'1
Almendralejo	89	0'9	27'3
Azuaga	254	-5'1	31'2
Badajoz	257	1'4	26'4
Cáceres	616	-2'7	36'7
Coria	237	12'2	38'7
Don Benito	2	67'9	25'3
Hervás	45	-20'7	28'3
Jerez de los Caballeros	1.320	23'9	40'7
Llerena	91	6'0	26'5
Mérida	158	13'4	47'1
Navalmoral de la Mata	8	46'6	58'6
Olivenza	513	5'8	45'3
Plasencia	163	2'7	22'9
Trujillo	294	-4'8	33'7
Valencia de Alcántara	567	3'8	32'8
TOTAL	5.060	8'8	38'9

En la comarca de Cáceres, la reactividad mostrada por los cerdos de recría es marcadamente diferente a la de los cerdos de esa misma edad en el resto de comarcas de la provincia de Badajoz ($p < 0'05$). En general, la reactividad del recría de todas las comarcas cacereñas ha sido similar con la excepción de la de Valencia de Alcántara. Las comarcas de Coria, Plasencia, Badajoz y Almendralejo presentan una reactividad en el ganado de recría

RESULTADOS

similar al resto de comarcas, contrastando con la alta reactividad de la comarca de Jerez de los Caballeros. En el caso de esta comarca, los resultados sólo son comparables con los de Llerena para los animales de esta edad, con la que no muestra diferencias estadísticamente significativas ($p=0'16$).

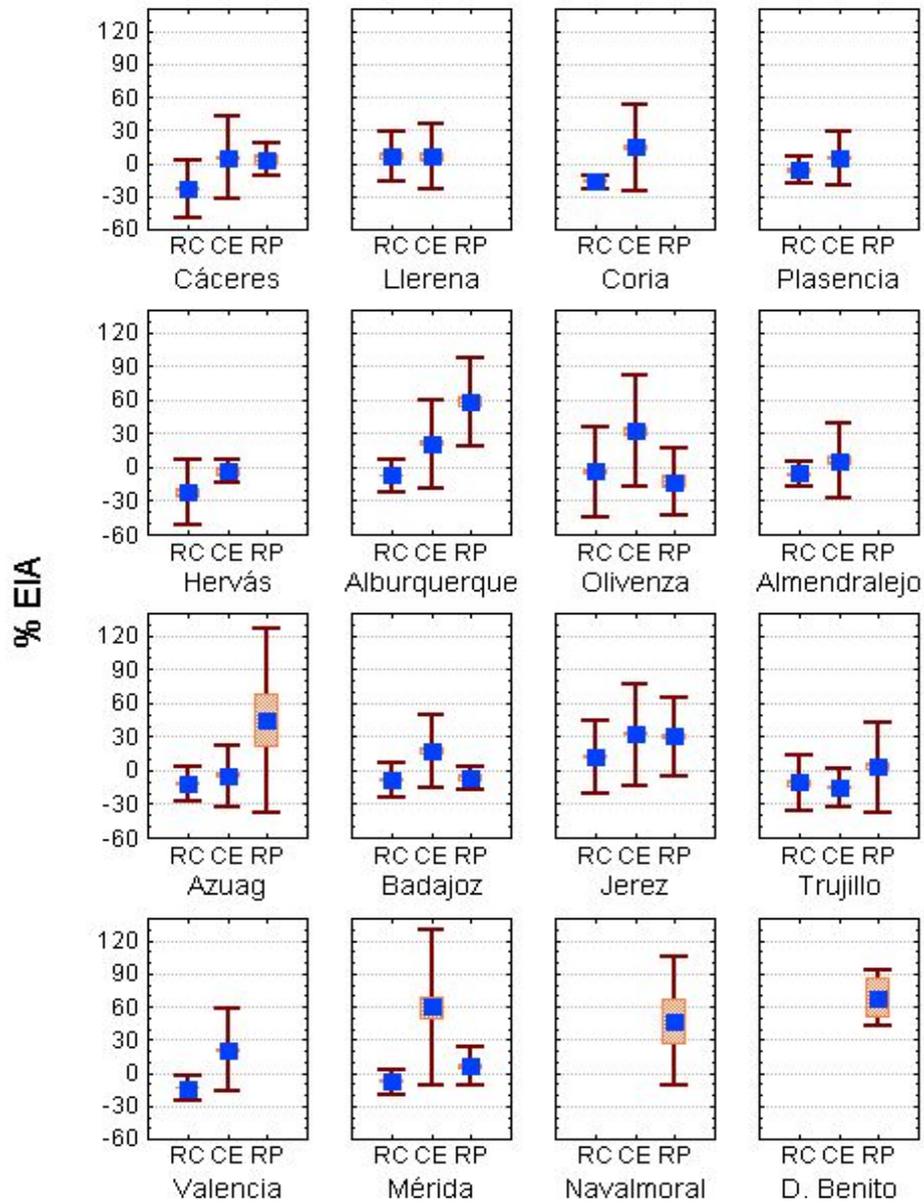
Fig. 27. Reactividades obtenidas en las distintas comarcas.



Con respecto al cebo, los animales chequeados en la comarca de Cáceres reaccionan de manera diferente a los del resto de comarcas de la región a excepción de los de Llerena ($p=1'00$), Coria ($p=0'09$), Plasencia ($p=0'93$), Hervás ($p=0'64$), Almendralejo ($p=0'99$) y Badajoz ($p=0'21$). En general, en esta edad, la mayoría de las comarcas muestran diferencias significativas ($p<0'05$) entre sí, siendo esa diferencia más marcada sobre todo en las comarcas de Mérida, Trujillo, Jerez de los Caballeros, Azuaga y Olivenza. Únicamente los animales de cebo de la comarca de Hervás han reaccionado de manera similar al del resto de comarcas incluida la comarca de Cáceres.

En cuanto a reproductores, los valores obtenidos son similares en todas las comarcas, destacando únicamente los de la comarca de Albuquerque que resultaron ser mayores ($p<0'05$), que la gran parte del resto de comarcas de la región.

Fig 28. Reactividades por comarcas según los diferentes grupos de edad.



RESULTADOS

En la figura 28 y la Tabla 37 se puede apreciar que, en cerdos de recría, las comarcas que han presentado un mayor número de casos con reactividades <20 % EIA, han sido las de Cáceres, Alburquerque, Olivenza, Badajoz y Jerez de los Caballeros, presentándose también la comarca de Olivenza y la de Jerez de los Caballeros como las de un más alto porcentaje de casos positivos con un resultado > 40% EIA.

Tabla 37. Reactividades por comarcas según los diferentes grupos de edad.

COMARCA	RECRÍO			CEBO			REPRODUCTORES		
	<20 %	20-40 %	>40 %	<20 %	20-40 %	>40 %	<20 %	20-40 %	>40 %
Alburquerque	173	4	5	92	50	65	11	10	36
Almendralejo	34	1	0	39	4	11	0	0	0
Azuaga	76	3	0	141	10	12	6	0	6
Badajoz	140	6	1	74	4	22	10	0	0
Cáceres	152	4	6	339	37	71	6	1	0
Coria	15	0	0	148	25	49	0	0	0
Don Benito	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Hervás	35	4	1	5	0	0	0	0	0
Jerez Caballeros	368	58	90	351	88	225	66	24	50
Llerena	33	8	3	32	7	8	0	0	0
Mérida	77	1	0	20	2	20	30	7	1
Navalmoral Mata	0	0	0	0	0	0	4	0	4
Olivenza	268	35	40	82	19	45	21	1	2
Plasencia	30	1	0	104	11	17	0	0	0
Trujillo	39	3	1	90	0	1	120	20	20
Valencia Alcántara	264	9	0	183	34	77	0	0	0
n	1.704	137	147	1.700	291	623	274	63	121
N	1.988			2.614			458		

En las comarcas de Llerena, Coria, Plasencia, Valencia de Alcántara, Almendralejo y Hervás, no se pudo obtener ninguna muestra de sueros porcinos pertenecientes a reproductores, al tener que ajustarnos a los sueros que remitían los veterinarios en el cumplimiento de las distintas campañas

puestas en marcha por la Consejería de Agricultura a través de las Oficinas Veterinarias de Zona del Servicio de Sanidad Animal.

En cuanto a los índices de seroprevalencia, sin contar con los resultados obtenidos en D. Benito y Navalmoral como consecuencia de sus peculiaridades, para cualquiera de los límites diagnósticos elegidos, se han mostrado reactivos un elevado número de sueros en las comarcas de Jerez de los Caballeros y Alburquerque (Tabla 38), comarcas que por otro lado, muestran una gran tradición en la cría del cerdo ibérico con un censo importante de los mismos. También han mostrado elevados índices de seroprevalencia las comarcas de Coria y Olivenza, comarcas con menor censo y tradición en la cría del ibérico.

Tabla 38. Seroprevalencias obtenidas en cada comarca				
Comarcas	N	Seroprevalencia (%)		
		> 20 %	> 24 %	> 40 %
Alburquerque	446	38'1	34'5	23'8
Almendralejo	89	18'0	15'7	12'3
Azuaga	254	12'2	11'4	7'1
Badajoz	257	12'8	10'5	8'9
Cáceres	616	19'3	18'3	12'5
Coria	237	31'2	29'1	20'7
Don Benito	2	100'0	100'0	100'0
Hervás	45	11'1	06'7	2'2
Jerez de los Caballeros	1.320	40'5	37'5	27'6
Llerena	91	28'6	23'1	12'1
Mérida	158	19'6	16'5	13'3
Navalmoral de la Mata	8	50'0	50'0	50'0
Olivenza	513	27'7	24'8	16'9
Plasencia	163	17'8	17'8	10'4
Trujillo	294	15'3	13'3	7'5
Valencia de Alcántara	567	21'2	20'5	13'6
TOTAL	5.060	27'3	25'1	17'6

El resto de comarcas en general, han mostrado bajos índices de seropositividad, todos ellos por debajo del 13,3 % de Mérida.

RESULTADOS

4.5.3. - Resultados según Oficina Veterinaria de Zona.

Ya que todos los datos de interés epizootico, se mueven, desde el punto de vista de la Administración Autonómica, en torno a las Oficinas Veterinarias de Zona (OVZ), hemos creído conveniente aportar nuestros resultados adecuados a esta disposición geográfica, simplemente por si en algún momento fueran de interés para el Servicio de Sanidad Animal de la Consejería de Agricultura. Por tanto, su presencia aquí es meramente complementaria y, lógicamente no varían excesivamente con respecto a los resultados obtenidos por comarcas agrarias, salvo en algunas de ellas que, toman jurisdicciones territoriales diferentes. De este modo, el número de 12 comarcas agrarias se reduce a 8 OVZ en la provincia de Badajoz, ya que las comarcas de Alburquerque y Olivenza (a excepción de los términos de Higuera de Vargas y Villanueva del Fresno, que pasan a la OVZ de Jerez de los Caballeros) se refunden en la de Badajoz, Almendralejo en la de Zafra, y Puebla de Alcocer en la Herrera del Duque. En la provincia Cáceres, el número de 10 comarcas agrarias se reduce a 7 OVZs, ya que las comarcas de Navalmoral de la Mata y Jaraíz de la Vera confluyen para formar la OVZ de Navalmoral de la Mata (en la cual se engloba también el término de Torremenga perteneciente a la comarca agraria de Plasencia); las comarcas agrarias de Plasencia y Hervás se unen para formar la OVZ de Plasencia, y finalmente, la OVZ de Valencia de Alcántara aglutina a las comarcas agrarias de Valencia de Alcántara y Brozas.

Tabla 39. Reactividades obtenidas por OVZ			
OVZ	EIA (n)	EIA (\bar{X})	EIA (DS)
Azuaga	254	-5'1	31'2
Badajoz	988	9'6	42'2
Cáceres	616	-2'7	36'7
Coria	237	12'2	38'7
Don Benito	2	67'9	25'3
Jerez de los Caballeros	1548	20'5	39'6
Mérida	158	13'4	47'1
Navalmoral de la Mata	8	46'6	58'6
Plasencia	208	-2'3	26'0
Trujillo	294	-4'8	33'7
Valencia de Alcántara	567	3'8	32'8
Zafra	180	3'5	27'0
TOTAL	5.060	8'8	38'9

Al igual que ocurría en los resultados obtenidos por comarcas, los mayores niveles de reactividad se citan en la OVZ de Jerez de los Caballeros (20'5). Muestran también niveles altos las OVZs de Mérida (13'4), Coria (12'2) y Badajoz (9'6), mientras que las reactividades medias más bajas siguen siendo para las OVZs de la provincia de Cáceres (Tabla 39).

Redundando en las explicaciones que ofrecíamos al principio de este capítulo, se muestran en la Tabla 40 los resultados al aplicar el tripe criterio de reactividades individuales de los sueros (<20%, ENTRE 20 Y 40 % Y >40%), referidos a los diferentes grupos de edad que venimos considerando en nuestra población de estudio, recrío, cebo y reproductores.

Tabla 40. Reactividades por OVZs según los diferentes grupos de edad.									
OVZ	RECRÍO			CEBO			REPRODUCTORES		
	<20 %	20-40 %	>40 %	<20 %	20-40 %	>40 %	<20 %	20-40 %	>40 %
Cáceres	152	4	6	339	37	71	6	1	0
Coria	15	0	0	148	25	49	0	0	0
Plasencia	65	5	1	109	11	17	0	0	0
Azuaga	76	3	0	141	10	12	6	0	6
Badajoz	465	36	39	185	58	124	32	11	38
Jerez	484	67	97	414	103	233	76	24	50
Trujillo	39	3	1	90	0	1	120	20	20
Valencia	264	9	0	183	34	77	0	0	0
Mérida	77	1	0	20	2	20	30	7	1
Navalmoral	0	0	0	0	0	0	4	0	4
D. Benito	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Zafra	67	9	3	71	11	19	0	0	0
n	1.704	137	147	1.700	291	623	274	63	121
N	1.988			2.614			458		

RESULTADOS

En cuanto al número de explotaciones estudiadas en cada OVZ, Jerez de los Caballeros es de nuevo la que presenta mayor número de positivos en los distintos niveles, junto con las de Badajoz, Cáceres y Azuaga.

Respecto a los índices de seroprevalencia obtenidos para cada OVZ (Tabla 41) y, dependiendo del límite diagnóstico, la seropositividad más alta es para Jerez de los Caballeros (24'5 - 37'1 %). Son importantes también las obtenidas en Badajoz, Mérida, Zafra y Coria. Los índices más bajos se han detectado en las OVZs de Azuaga (12'2 - 7'1), Plasencia (16'3 - 8'6) y Trujillo (15'3 - 7'5).

Tabla 41. Seroprevalencias obtenidas en cada OVZ				
OVZ	N	Seroprevalencia (%)		
		> 20 %	> 24 %	> 40 %
Azuaga	254	12'2	11'4	07'1
Badajoz	988	31'0	28'0	20'3
Cáceres	616	19'3	18'3	12'5
Coria	237	31'2	29'1	20'7
Don Benito	2	100'0	100'0	100'0
Jerez de los Caballeros	1548	37'1	34'0	24'5
Mérida	158	19'6	16'5	13'3
Navalmoral de la Mata	8	50'0	50'0	50'0
Plasencia	208	16'3	15'4	08'6
Trujillo	294	15'3	13'3	07'5
Valencia de Alcántara	567	21'	20'5	13'6
Zafra	180	23'3	19'4	12'2
TOTAL	5.060	27'31	25'06	17'60

Finalmente, queremos significar que el tratamiento estadístico se hizo en el tratamiento de los resultados por edades, teniendo en cuenta las distintas comarcas, ya que lo consideramos más interesante que por comarcas solo. Si se hace únicamente por comarcas, es evidentemente la obtención de diferencias muy significativas, no porque sean diferentes con total seguridad, hecho no descartable, sino porque influyen, otros datos como la edad de los cerdos muestreados y muy diversos factores que intervienen al no haberse hecho un muestreo homogéneo, debido a la dificultad de obtención de muestras.

4.5.4. - Resultados por Términos Municipales.

En cuanto a las reactividades individuales en cada término, se puede observar que los términos de Cheles y Salvaleón, en la provincia de Badajoz y, Pedroso de Acín, Peraleda de San Román y Robledillo de Trujillo, en la provincia de Cáceres, han presentado reactividades medias muy altas, todas por encima del 50 %. Existen también numerosos términos con reactividades negativas, la mayoría de los cuales pertenecen a la provincia de Cáceres. Estas apreciaciones quedan recogidas en las Tablas 42 y 43.

En todos los términos, se observa que los animales en edad de recrió, muestran escasa reactividad. En cambio los animales de cebo se muestran más reactivos, en torno al 20-40 %. Todavía es más significativo ese incremento en los reproductores de todos los términos municipales, algunos de manera muy notoria como Salvaleón, Mérida y Robledillo de Trujillo, término éste último escasamente muestreado.

RESULTADOS

Tabla 42. Reactividades obtenidas en cada término de la provincia de Badajoz

Términos	% EIA			
	\bar{X}	Recrío	Cebo	Reproductores
Alburquerque	14'5	-10'4	30'2	71'0
Alconchel	8'9	-10'2	30'4	72'9
Almendral	0'8	0'8	0	0
Azuaga	-0'7	-13'6	29'2	95'9
Badajoz	-3'8	-8'7	21'0	71'9
Barcarrota	10'2	-5'4	28'9	66'8
Berlanga	19'4	-7'8	28'5	66'1
Cheles	51'4	-24'2	24'9	93'6
Fregenal de la Sierra	-2'1	-3'0	26'8	48'1
Fuente de Cantos	6'4	-3'4	25'7	63'4
Granja Torrehermosa	-5'0	-9'2	20'3	0
Higuera de Llerena	27'2	13'6	0	40'7
Higuera la Real	22'8	-4'3	29'2	86'5
Jerez d los Caballeros	16'6	-3'5	29'4	70'4
Llera	24'0	-0'1	25'9	59'4
Maguilla	-13'6	-14'5	29'5	-
Mérida	42'4	3'0	25'4	125'7
Montijo	-10'8	-10'8	0	0
Nava de Santiago	-0'4	-9'1	28'1	0
Nogales	6'4	-0'3	27'6	96'4
Oliva de la Frontera	34'0	-0'8	32'6	83'4
Olivenza	0'4	-48'4	29'0	98'4
Orellana la Vieja	67'9	0	0	67'9
Peraleda del Zaucejo	-23'0	-23'0	0	0
Puebla Sancho Pérez	-21'1	-22'5	23'6	0
S. Vicente Alcántara	38'9	-3'4	28'8	64'1
Salvaleón	85'0	4'0	31'3	96'1
Santa Marta	41'4	-9'3	26'7	63'2
Talavera la Real	47'5	10'5	34'4	73'4
Valencia de Mombuey	36'8	6'2	29'3	69'4
Valverde de Leganés	0'6	-24'5	34'1	72'8
Villagarcía de la Torre	4'7	-12'6	29'3	56'5
Villanueva del Fresno	0'8	-7'3	28'7	58'7
Villar del Rey	4'4	-12'1	30'2	78'0
Zahínos	30'7	3'6	30'0	67'3

Tabla 43. Reactividades obtenidas en cada término de la provincia de Cáceres

Términos	% EIA			
	\bar{X}	Recrío	Cebo	Reproductores
Abadía	-22'9	-31'0	29'4	52'6
Ahigal	-3'5	-3'5	0	0
Aldea de Trujillo	-16'7	-18'0	0	75'7
Arroyo de la Luz	-11'3	-13'5	22'6	67'0
Cáceres	1'3	-20'4	29'0	70'3
Carcaboso	-14'6	-14'6	0	0
Casar de Cáceres	16'7	1'2	0	63'2
Casas de D. Antonio	-11'5	-11'5	0	0
Coria	-7'1	-7'1	0	0
Cumbre (La)	-23'8	-24'3	30'7	0
Holguera	-8'9	-9'2	24'9	0
Herrera de Alcántara	19'6	-7'5	31'6	73'5
Madroñera	15'3	0'7	31'8	97'0
Malpartida de Plasencia	16'5	-11'2	31'7	56'6
Miajadas	17'3	2'5	28'3	50'0
Oliva de Plasencia	45'7	0	34'1	50'6
Pedroso de Acín	77'1	0	38'3	81'0
Peraleda de San Román	64'3	1'3	0	95'7
Perales del Puerto	-19'0	-28'1	24'9	40'6
Portaje	44'9	2'8	31'6	76'3
Robledillo de Trujillo	74'6	9'3	0	139'9
Salorino	3'5	-2'3	25'7	75'1
Salvatierra de Santiago	11'4	-0'3	0	151'8
Santibáñez el Bajo	12'2	12'2	0	0
Serradilla	-2'1	-4'8	29'2	0
Torrejón el Rubio	1'1	-5'6	28'0	58'3
Torremocha	12'9	5'4	31'6	0
Torreorgaz	5'0	5'0	0	0
Trujillo	20'4	-3'7	29'8	71'6
Valdefuentes	26'4	8'2	28'2	55'4
Valdelacasa del Tajo	-6'4	-6'4	0	0
Valencia de Alcántara	-13'7	-23'6	0	55'4
Villanueva de Alcántara	-12'3	-14'4	28'3	51'6

RESULTADOS

Respecto a seroprevalencias, éstas han alcanzado índices del 0 % en los términos de Almendral, Granja de Torrehermosa, Maguilla, Montijo, Peraleda del Zaucejo y Puebla de Sancho Pérez, en Badajoz. En la provincia de Cáceres se han obtenido prevalencias del 0 % en numerosos términos. Además, municipios como Arroyo de la Luz y Villanueva de Alcántara, han rondado niveles de una total seronegatividad.

Por el contrario, se han registrado prevalencias altas, en los términos de Higuera de Llerena, Oliva de Plasencia, Pedroso de Acín, Cheles, Mérida, Oliva de la Frontera, San Vicente de Alcántara, Salvaleón, Santa Marta, Talavera la Real, Valencia del Mombuey, Zahínos, Peraleda de San Román, Portaje y Valdefuentes.

Finalmente, las seroprevalencias obtenidas en cada término (según el límite diagnóstico elegido), se recogen en la Tablas 44 y 45, para Badajoz y Cáceres, respectivamente, con las que finalizamos el capítulo de Resultados de este trabajo Doctoral.

Tabla 44. Seroprevalencias obtenidas en los términos municipales de Badajoz.

Términos	N	Seroprevalencias (%)		
		>20 %	>24 %	>40 %
Alburquerque	121	35'5	0,3	25'6
Alconchel	134	30'6	0,3	15'7
Almendral	28	0	0	0
Azuaga	104	14'0	13'1	10'3
Badajoz	206	7'3	5'3	5'3
Barcarrota	103	28'2	23'3	15'5
Berlanga	27	48'1	48'1	25'9
Cheles	30	70'0	66'7	60'0
Fregenal de la Sierra	94	2'1	2'1	1'1
Fuente de Cantos	44	25'0	18'2	6'8
Granja de Torrehermosa	7	14'3	0	0
Higuera de Llerena	2	50'0	50'0	50'0
Higuera la Real	40	42'5	40'0	22'5
Jerez de los Caballeros	849	34'6	31'2	21'3
Llera	23	47'8	43'5	34'8
Maguilla	96	2'1	2'15	0
Mérida	70	41'4	34'3	30'0
Montijo	68	0	0	0
Nava de Santiago	20	10'0	10'0	0
Nogales	31	16'1	9'7	3'2
Oliva de la Frontera	15	53'3	53'3	33'3
Olivenza	86	34'9	34'9	31'4
Orellana la Vieja	2	100'0	100'0	100'0
Peraleda del Zaucejo	20	0	0	0
Puebla de Sancho Pérez	33	3'0	0	0
S. Vicente de Alcántara	91	85'7	72'5	41'8
Salvaleón	151	94'0	93'4	85'4
Santa Marta	5	80'0	80'0	60'0
Talavera la Real	20	65'0	65'0	55'0
Valencia de Mombuey	40	67'5	60'0	37'5
Valverde de Leganés	35	31'4	28'6	17'1
Villagarcía de la Torre	45	31'1	26'7	15'6
Villanueva del Fresno	228	17'1	13'6	6'6
Villar del Rey	234	20'9	20'1	15'8
Zahínos	28	57'1	53'6	32'1

RESULTADOS

Tabla 45. Seroprevalencias obtenidas en los términos municipales de Cáceres

Términos	N	Seroprevalencias (%)		
		>20 %	>24%	>40 %
Abadía	40	12'5	7'5	2'5
Ahigal	5	0	0	0
Aldea de Trujillo	75	1'3	1'3	1'3
Arroyo de la Luz	222	3'1	2'7	2'2
Cáceres	366	28'42	27'3	18'6
Carcaboso	14	0	0	0
Casar de Cáceres	4	25'0	25'0	25'0
Casas de D. Antonio	3	0	0	0
Coria	6	0	0	0
La Cumbre	108	0'9	0'9	0
Herrera de Alcántara	243	39'9	39'1	27'6
Holguera	115	0'9	0'9	0
Madroñera	13	30'8	23'1	7'7
Malpartida de Plasencia	12	50'0	50'0	25'0
Miajadas	35	42'9	37'1	17'1
Oliva de Plasencia	10	100'0	100'0	70'0
Pedroso de Acín	11	100'0	100'0	90'9
Peraleda de San Román	6	66'7	66'7	66'7
Perales del Puerto	25	16'0	12'0	4'0
Portaje	80	72'5	67'5	47'5
Robledillo de Trujillo	8	50'0	50'0	50'0
Salorino	90	11'1	10'0	5'6
Salvatierra de Santiago	13	7'7	7'7	7'7
Santibáñez el Bajo	1	0	0	0
Serradilla	50	8'0	8'0	0
Torrejón el Rubio	76	11'8	11'8	9'2
Torremoncha	7	28'6	28'6	0
Torreorgaz	4	0	0	0
Trujillo	42	45'2	38'1	21'4
Valdefuentes	10	50'0	40'0	30'0
Valdelacasa de Tajo	2	0	0	0
Valencia de Alcántara	32	12'5	12'5	12'5
Villanueva de Alcántara	202	4'5	4'0	0'5



DISCUSIÓN

5.1.- SOBRE EL ESTABLECIMIENTO DE LÍMITES DIAGNÓSTICOS Y LOS RESULTADOS GLOBALES DEL ESTUDIO.

La técnica inmunoenzimática ELISA se ha presentado como un medio idóneo para realizar amplios estudios de prevalencia (BOGH *et al.*, 1994), resultando una herramienta eficaz para la realización de encuestas epidemiológicas. Es igualmente sabido que ésta, puede usarse para clasificar explotaciones libres de *Ascaris suum* (LIND *et al.*, 1993). Si añadimos a esto que en la especie porcina, en España en general y en Extremadura en particular, se vienen realizando estudios periódicos, con muestreos obligatorios para la detección de determinadas enfermedades transmisibles de declaración y control obligatorios, dejamos justificado tanto el trabajo que hemos realizado, como su utilidad y facilidad (toma de muestras), para su desarrollo.

Como suele ocurrir en estos casos, desgraciadamente, aún en condiciones óptimas de trabajo, los resultados de unos y otros autores no son comparables entre sí, incluso cuando el material y metodología sean muy similares. En el caso que se utilicen sistemas de diagnóstico y detección distintos, las posibilidades de comparación se alejan aún más. En el primer caso, la dificultad de equiparación radica fundamentalmente en los reactivos biológicos, tales como sueros controles positivos y negativos, conjugado, etc. Estos poseen una actividad variable e irrepetible (dado que se obtienen en animales de distinta edad, raza, *status* sanitario, etc.), y en ningún caso existe un reactivo de referencia estándar que permita expresar en los trabajos su actividad relativa.

Adicionalmente, otros factores, únicos de cada laboratorio, como la temperatura ambiente, la calidad de otros reactivos, o incluso el estado de ánimo y atención del manipulador, pueden influir marcadamente. Son especialmente importantes para intentar su control, la inestabilidad del H₂O₂, incluso cuando se almacena a 4 °C, ya que, el tiempo puede originar que la concentración real sea muy diferente a la esperada. Según TIJSEN (1985) una concentración real de H₂O₂ incorrecta es el factor más importante en la inactivación enzimática y variabilidad de los resultados.

Antes de proceder a comparar nuestros resultados en lo que se refiere a los límites diagnósticos elegidos, quisiéramos justificar el porqué de la

DISCUSIÓN

elección de la fracción antigénica seleccionada como antígeno para el diagnóstico con el método ELISA.

En este sentido, FRONTERA (1998) destaca la similitud de los cerdos inmunizados con antígeno ovárico (AOV) y antígeno uterino (AUT), cuyo perfil de respuesta es muy alto y prácticamente idéntico. Esto sugiere que el aparato reproductor femenino tiene una mayor capacidad inmunógena, difícilmente explicable si tenemos en cuenta la gran comunidad antigénica de las diversas estructuras anatómicas.

Sin embargo, es lógico que sean las estructuras del nematodo adulto más expuestas al sistema inmune las que ejerzan los mecanismos de inmunoevasión que garanticen su supervivencia, que según algunos autores comienza con las fases migratorias a los pocos días de la infestación en cerdos y ratones (STANKIEWICZ y JESKA, 1990; CRANDALL *et al.*, 1978). Los extractos del parásito tienen un efecto inmunoprotector, pero el desarrollo de la inmunidad intestinal que impide la migración parenteral de las larvas requiere una exposición crónica a la infestación (URBAN *et al.*, 1988). La respuesta a los antígenos embrionarios, al permanecer ocultos al sistema inmune bien dentro del aparato reproductor o del huevo no larvado, presumiblemente no suponen un problema para la supervivencia y reproducción del nematodo adulto, haciendo innecesario mecanismos inmunoevasivos.

Siguiendo las indicaciones de FRONTERA (1998), hemos desechado la posibilidad de uso de los AUT y AOV ya que reaccionan intensamente de forma casi indiscriminada contra todo los sueros, independientemente de la procedencia del cerdo.

La evolución humoral frente al antígeno pseudocelómico (APS), productos de excreción-secreción (ES) de L2-L3 y huevos embrionados es muy similar en lechones infestados experimentalmente, aunque la respuesta es más intensa a los antígenos larvarios (LIND *et al.*, 1993).

Finalmente, según FURUYA *et al.* (1995), el extracto bruto de hembras es el más sensible, lo que concuerda con la mayor sensibilidad del AUT y AOV encontrada por FRONTERA (1998).

Otros autores, como SMITH *et al.* (1983), han utilizado con fines inmunodiagnósticos, huevos embrionados como antígeno.

Pocos son los autores que obtienen antígeno excretor-secretor de adultos a partir de la especie parásita que nos ocupa (*A. suum*), entre ellos destaca, KOMATSU *et al.* (1979). Un mayor número de autores ha prestado su atención en obtener antígeno excretor-secretor de adultos de *Toxocara spp.*, (KOIZUMI *et al.*, 1983; AMERASINGHE *et al.*, 1992). Sin embargo, muchos investigadores han obtenido extracto bruto de adultos de *A. suum* como antígeno para sus experimentos (IZZAT y OLSON, 1970; TORRES y BARRIGA, 1974; MIKULIKOVA, 1976; KOMATSU *et al.*, 1979; MARRETA y CASEY, 1979; CAMPOS BUENO *et al.*, 1981; ÁGUILA *et al.*, 1988; BHALLA *et al.*, 1992; CAMARGO *et al.* 1992 y LUKES, 1992).

El simple contacto con los elementos infestantes, aún cuando éste no culmine en la presencia de adultos en el intestino delgado, puede explicar completamente una reacción positiva por ELISA aún utilizando extractos antigénicos de la fase adulta. Generalmente los antígenos preparados a partir de estados adultos de *Ascaris suum* han centrado su principal uso en el inmunodiagnóstico de esta parasitosis. Sin embargo éstos, muchas veces están contaminados con sustancias que proceden del propio hospedador dando resultados inespecíficos.

Como consecuencia de este estudio de selección, se empezaron a utilizar antígenos de estados larvarios, sobre todo los obtenidos a partir de extracto bruto larvario y de los productos de excreción-secreción (ES). Los principales autores que se inclinaron por el uso del antígeno bruto vienen representados por KOIZUMI *et al.* (1983), LAUBACH (1984), URBAN y ROMANOWSKI (1985) y RHODES *et al.* (1988).

Por otra parte, preconizaron el uso del antígeno excretor-secretor larvario autores como, STROMBERG (1979), URBAN y DOUVRES (1981) y HASWELL-ELKINS *et al.* (1989), que utilizan dicho antígeno para el desarrollo de una inmunoprecipitación en el diagnóstico de la ascariosis humana por *A. lumbricoides*. Finalmente, en 1985, URBAN y ROMANOWSKY establecen, mediante SDS, el perfil proteico de los antígenos presentes en medios de cultivo de huevos, de L2 a L3 y de L3 a L4 *in vitro* comprobando menor complejidad que la presente en el antígeno de extracto bruto larvario.

DISCUSIÓN

Así pues, sobre la base de las consideraciones y estudios realizados por los distintos autores, hemos elegido para nuestro ensayo las condiciones descritas por FRONTERA (1998) con ligeras modificaciones. En este sentido, por su gran sensibilidad y sobre todo por su mayor especificidad, optamos por tapizar las placas con antígeno excretor-secretor larvario, que según BOGH *et al.* (1994), usando los mismos reactivos y el mismo procedimiento descrito por LIND *et al.* (1993), ofrece una sensibilidad y especificidad del 97 % y 89 % respectivamente, cuando la presencia de las llamadas "manchas de leche" fue igual o superior a tres.

Hemos desechado la utilización de los antígenos obtenidos a partir de adultos, ya que reaccionan prácticamente con todos los sueros, unas veces por infestaciones propias de *Ascaris suum*, pero en otras muchas, por reacciones cruzadas con otros nematodos. Si a esto unimos que el proceso de obtención de los antígenos adultos conlleva, en numerosas ocasiones, la inclusión de productos contaminantes propios del hospedador, esa inespecificidad se ve aumentada.

El fenómeno de la reactividad de los sueros por reacciones cruzadas se reduce al mínimo haciendo uso del antígeno excretor-secretor larvario. Estas apreciaciones son corroboradas por PÉREZ-MARTÍN *et al.* (1999), en su estudio de la ascariosis en la cabaña porcina extremeña, los cuales analizan 350 cerdos ibéricos, encontrando que el 100 % de los animales son positivos a ELISA frente a los antígenos esofágico, cuticular y ovárico; el 92'3 % frente al líquido pseudocelómico, y el 89'74 % frente al uterino y ES de adultos.

Con respecto a las condiciones y metodología empleada por otros autores en la ejecución de la técnica ELISA, no podemos comparar nuestros resultados con los obtenidos en 1981 por GRELCK *et al.*, quienes utilizan una modificación de la técnica ELISA de CYPESS *et al.* (1977), haciendo uso de un extracto de adultos y huevos a una concentración de 10 µg/ml. Los sueros son adsorbidos con 200 µg de proteína antigénica/ml a la dilución de 1:50 en PBS-Tw 20 al 0,2%, mientras que el sustrato utilizado es o-toluidina. La lectura de la reacción es realizada a 620 nm de longitud de onda.

Por la misma razón, tampoco son comparables a los obtenidos por HERSKOVIC y ASTORGA (1985), en la investigación de anticuerpos anti-

Toxocara, mediante el método ELISA, usando antígeno de *T. canis*, realizando la adsorción con antígeno de *A. suum* y utilizando como sustrato el ácido 5-amino-salicílico (5AS).

ERIKSEN *et al.* (1992a,b) utilizan distintos tipos antigénicos: 2'5 µg/ml de ES-L2/L3, 2'4 µg/ml de huevos embrionados y 7'4 µg/ml de fluido corporal de adultos. Coincidimos en uno de los tipos antigénicos utilizados, pero nosotros hemos considerado que la concentración debe ser el doble (5 µg/ml) para obtener mayores densidades ópticas y una mejor discriminación entre positivos y negativos. Esta concentración dista mucho de la utilizada por URBAN y ROMANOWSKY (1985), al estudiar los efectos de protección en conejos con *A. suum* mediante la técnica ELISA, utilizando antígeno de huevos o larvas a una concentración de 1 µg proteína/pocillo, procesando los sueros a una dilución 1:100, sensiblemente diferente de la dilución 1:600 empleada por nosotros.

No coincidimos en el tipo antigénico (extracto bruto larvario y extracto bruto de hembras) utilizado por FURUYA *et al.* (1995) para el diagnóstico inmunoenzimático de la ascariosis, pero sí en su concentración que fue de 5 µg/ml.

Para investigar las infestaciones naturales por *A. suum* en cerdos, ROEPSTORFF (1998), también utiliza antígeno excretor-secretor L2/L3 pero a una concentración de 2'5 µg/ml. En este caso, se consideraron positivos todos aquellos sueros con DO superior a la media de los controles negativos, más 5 veces la desviación estándar.

Respecto a las densidades ópticas, ROEPSTORFF (1997) utilizando antígeno específico L2/L3 obtiene un valor de DO para los animales destetados (tras haberse mostrado repetidamente libres de helmintos) de 0'093, valor muy lejano al obtenido por nosotros, que en el caso de los sueros controles negativos, su media fue de 0'2. Sin embargo, sí son más acordes con nuestros resultados, los obtenidos en explotaciones libres de parásitos, y así, la media de las densidades ópticas de las reproductoras y lechones fue de 0'182 y 0'131, respectivamente. En cuanto a los resultados en tres explotaciones infestadas la media de DO fue de 1,28 en los cerdos de cebo y 0'76 en reproductoras, valores próximos a la media de nuestros sueros controles positivos (0'7).

DISCUSIÓN

Respecto al valor del punto de corte, BOGH *et al.* en 1994, evalúan un ELISA como método para la detección de cerdos naturalmente infectados con *A. suum*, utilizando fluido corporal de adultos y antígeno ES-L2/L3. Estos autores establecieron el valor punto de corte sumando 5 veces la desviación estándar a la media de los controles negativos que correspondían a 7 sueros procedentes de cerdos libres de parásitos. Dicho valor fue de 0'303 y 0'384 para antígeno ES-L2/L3 y antígeno de fluido corporal de adultos respectivamente, valor, que en el caso del antígeno ES-L2/L3 es similar al obtenido por nosotros (0'322).

Creemos interesante hacer constar, aunque el trabajo no es referido a la ascariosis porcina, las investigaciones de RIERA y PORTUS (1988) en el diagnóstico de la ascariosis humana mediante la técnica ELISA. En este caso, se utiliza antígeno ES de L2 de *Toxocara canis* y consideran negativos los sueros con un porcentaje de positividad inferior a la media más dos veces la desviación estándar de la población negativa. Son positivos aquellos con un porcentaje superior a la media más 4 veces la desviación estándar. Consideran dudosos, los sueros con valores comprendidos entre ambos.

Las infestaciones con *A. suum* pueden estimular el desarrollo de una fuerte protección inmunitaria, lo cual depende del nivel y duración de la exposición al parásito (ERIKSEN, 1980; ERIKSEN *et al.*, 1992a). Las densidades ópticas obtenidas por nosotros, nos hacen pensar que, efectivamente, la cría extensiva del cerdo ibérico, conlleva que los contactos con *Ascaris suum* no se producen de forma generalizada, y cuando ocurren, lo hacen de manera esporádica provocando unas respuestas humorales que se debilitan con el tiempo. Este hecho, explicaría la obtención de valores de DO no excesivamente altos, corroborando así la afirmación de LIND *et al.* (1993) que encuentran que las respuestas más fuertes, con densidades ópticas más elevadas, se producen cuando las inoculaciones experimentales se realizaban con bajas dosis y de manera repetida.

Sin embargo, un continuo y repetido contacto entre parásito y hospedador, provoca a largo plazo un desplome inmunitario, que se traduce en títulos considerablemente más bajos (fenómenos inmunoinvasivos del parásito). Opinión similar ofrecen PÉREZ-MARTÍN *et al.* (1999), quienes observan que, la D.O. obtenida por ELISA, en el suero de cerdos con formas

parasitarias infestantes fue menor que la obtenida en el resto de animales. Del mismo modo, debido a la discordancia entre los resultados obtenidos por métodos directos e indirectos de diagnóstico, parece existir un efecto inmunosupresor del parásito que permite su alojamiento junto a una reducción del nivel de anticuerpos.

En otro orden de cosas, el hecho de ofrecer datos de seroprevalencia en este trabajo, ha sido más que nada, para una más fácil comprensión por el lector. Es decir, no podemos determinar la prevalencia, entendida como un porcentaje de positivos sobre el total de muestreados. La razón es que no tenemos un sistema de referencia para determinar qué suero se considera positivo o negativo y qué reactividad máxima tiene un negativo. Lo que vemos es la reactividad media del grupo y su variabilidad. Una reactividad media del 0 % sólo indica que es igual a la reactividad del control negativo. Pero 0 % no es ausencia de anticuerpos, como tampoco lo son - 10 ó - 20 %, solo son valores relativos, lo cuál justifica por sí solo el uso de este tipo de resultado.

Otra cosa que debe tenerse en cuenta y, muy relacionado con lo anteriormente expuesto, es que, con cualquier límite, decidir qué suero es positivo o negativo, conlleva la aparición de falsos positivos y falsos negativos. Esa ha sido la razón por la que sobre los datos de seroprevalencia obtenidos, no se ha realizado ningún tipo de estadística, porque pensamos que, lejos de aportar algo, lo que haría sería quitarle significación a lo que realmente sea diferente. Por tanto hemos creído que no debíamos comparar prevalencias y sí, reactividades medias de las poblaciones.

Respecto a los límites diagnósticos, en principio se pensó en establecer un punto de corte basado en la $\bar{X} + 3DS$ del suero control negativo. Este límite se puede considerar correcto porque establece un intervalo de confianza del 99 %, pero a la postre de un mismo suero, aunque ese suero sea el resultado de una mezcla de sueros negativos. De esta manera, sólo se miden las variaciones debidas a imprecisiones de dispensación de reactivos, no las oscilaciones normales de sueros negativos, debidas a causas biológicas. Por tanto, si una muestra queda dentro de ese intervalo, no es negativo, es simplemente indistinguible del control negativo. Si se sale de ese intervalo, no podemos afirmar que sea positivo, es simplemente diferente del control.

DISCUSIÓN

Con este límite suponemos que el 99 % de los sueros negativos reales están por debajo del nuestro. Pero como nunca sabremos cual es el límite real, cambiando los resultados en dependencia de que ese límite sea un poco más alto o más bajo, siempre seguro que quedan resultados negativos sobre ese límite. Es decir, en cualquier enfermedad es imposible saber qué proporción de falsos positivos y falsos negativos cabe esperar. Si a todo esto añadimos que estamos hablando de una enfermedad en la que existen numerosos animales muy reactivos sin parásitos y muchos animales parasitados que son muy poco reactivos, estaremos de acuerdo que la complejidad es aún mayor.

Como en nuestro caso, hemos usado siempre el mismo control negativo, en todas las placas se debería haber obtenido el mismo valor de D.O. que determina el punto de corte, pero como ya sabemos que eso es imposible, decidimos usar la media de todos los puntos de corte obtenidos en todas las placas, pensando siempre que la media de una muestra tiende a la media real a medida que el muestreo es mayor. Ese valor medio de punto de corte, fue transformado en %EIA resultando ser su equivalente el 24 %EIA. Volvemos a insistir que este punto de corte basado en la $\bar{X} + 3DS$, nos ofrece el límite de confianza del 99 % de él mismo, es decir, lo que significa que si medimos el control como una muestra cualquiera, tenemos el 99 % de probabilidades que salga < 24 % EIA, no dando, en principio, ningún nivel de confianza para cualquier otro suero.

Por todas estas razones, a lo largo de nuestra exposición de resultados hemos utilizado muy poco, o no hemos utilizado, este límite ya que, entre otras cosas, con la $\bar{X} + 3DS$ del control, el porcentaje de falsos positivos teórico, no se puede calcular. Obviamente debe ser algo menor del 5 %, pero eso solo lo sabemos porque tenemos la referencia de que el punto de corte del 20 %EIA cubre al 95 % de los negativos.

En cambio, los límites del 20 y 40 % están basados en la \bar{X} y DS de una población. Son los límites de confianza del 95 % y 99 % que se pueden esperar ante cualquier suero realmente negativo. Dicho de otro modo, si medimos un suero negativo cualquiera, tenemos el 99 % de probabilidad de que el resultado sea <40 %EIA, y del 95 % que sea <20 %EIA. En este caso y, partiendo de una población 100 % negativa, los límites del 20 y 40 % deben dar en teoría un 5 % y un 1 % respectivamente de falsos positivos.

En resumen, el 24 % y el 20 % se han calculado de manera diferente y, solo por casualidad, son similares. Sin embargo, que los límites 20 y 24 % sean tan cercanos, nos indica que tienen un buen control negativo (ni demasiado alto, ni demasiado bajo) y, a efectos prácticos ambos son válidos, siempre que el control sea como éste, verdaderamente negativo y de reactividad similar a la media de una población negativa.

Estas reflexiones nos orientan claramente a decir que el inconveniente de los resultados basados en la $\bar{X} + 3DS$ del control negativo, es que nuestros resultados sólo son comparables con aquellos que usen los mismos controles.

Por tanto hemos creído más conveniente, hablar a lo largo de este trabajo, sobre todo de reactividades individuales y colectivas (medias), calculadas sobre una escala arbitraria de porcentaje (dependiente también de controles) pero perfectamente comparables entre sí, mientras no le demos excesiva importancia simplificando los datos en positivos y negativos. Evidentemente, también hemos optado por esta otra visión alternativa y adicional de los datos mucho más entendible para el lector. Todo esto desemboca en algo que debemos conocer y aceptar: es el hecho de que como no sabemos cuál es la sensibilidad y especificidad de nuestra técnica diagnóstica comparada con otros métodos, asumimos que lo único criticable es el mismo método (el criterio para decidir qué es positivo y negativo), lo que automáticamente deja a cero el valor del resultado.

Por eso, a lo largo de la exposición de resultados, hemos puesto mucho énfasis en hablar de medición de niveles de anticuerpos de colectivos, midiendo el nivel de contacto entre la población porcina y el parásito. De la misma manera, no nos ha quedado más remedio, aunque hemos puesto poco interés, que hablar de diagnósticos individuales y prevalencias, que evidentemente, siempre resultan con un grado elevado de falsedad. Queríamos hacer constar este razonamiento, ya que creemos que el lector debe tener constancia y debe tener claro cual es la diferencia.

Para completar este punto, y refiriéndonos a %EIA, no hay nada que nos obligue a determinar si el mejor límite es el del 20 % o el del 40 %. Cada uno tiene sus ventajas e inconvenientes. Un punto de corte establecido en el 20 % nos orienta hacia resultados sensibles, pero poco específicos. Por el

DISCUSIÓN

contrario, el 40 % ofrece resultados más específicos y menos sensibles. Hay que tener en cuenta que, en la ascariosis las prevalencias parasitológicas basadas en análisis coprológicos suelen ser altas. Por tanto, en cuanto a la producción de anticuerpos, raro es el cerdo que no es reaccionante, por lo que el valor predictivo positivo es alto. Es decir, si el resultado es positivo, hay una gran probabilidad de que el resultado sea cierto.

Por otro lado, en la ascariosis interesa básicamente el diagnóstico del colectivo, no del individuo. Si tomamos un punto de corte relativamente alto, hacemos un test muy específico y evitamos la existencia de falsos positivos, detectando con seguridad piaras y comarcas donde la prevalencia es baja y el valor predictivo positivo también bajo, resultando, pues, que los positivos suelen ser falsos. Si tomamos un límite diagnóstico bajo (20 %) obtendremos un test muy sensible en el que no se escapa prácticamente ninguna respuesta serológica. Este sería un límite muy adecuado para detectar la infestación en colectivos presuntamente libres de *Ascaris*, detección de seroconversión en lechones con vista a un tratamiento condicionado al seguimiento serológico, certificación de colectivos libres de *Ascaris*, etc.

Finalmente, existe otra opción, simplista tal vez, pero muy práctica, que también se ha considerado, consistente en tomar los valores por debajo del 20 % como realmente negativos, los valores > 40 % como realmente positivos, y aquellos con reactividades entre el 20 y el 40 % como dudosos o débilmente positivos.

5.2.- SOBRE LA DISTRIBUCIÓN DE MUESTRAS Y RESULTADOS SEGÚN LOS GRUPOS DE EDAD.

La edad, como factor intrínseco, juega un papel muy importante, siendo los animales de 2-3 meses los que suelen manifestar claramente signos de la parasitación. Tras los tratamientos oportunos o eliminación espontánea de los vermes, los animales quedan inmunes, pero al cabo de los años, pueden volver a reinfestarse (EUZEBY, 1963). La parasitación alcanzada en los primeros estadios de la vida afecta mucho más al crecimiento que las infestaciones posteriores. Los resultados demuestran que la desparasitación de los cerdos de cebo, al llegar al cebadero, no se traduce en una mayor ganancia de peso. Este tratamiento actúa más bien aumentando que disminuyendo las manchas

blancas en el hígado, lo cual provoca su decomiso al sacrificio. Resulta indicado realizar medidas profilácticas de control antiparasitario en lechones, con el fin de obtener mejores rendimientos durante el período de engorde (NILSSON y MARTINSSON, 1980).

Está claro pues que, la importancia de actuación de los endoparásitos es distinta según los grupos de edad. Incluso hay parásitos que su máxima patogenicidad la desarrollan en determinadas edades de su hospedador como ocurre con *Isospora suis* en lechones. Estas consideraciones de JOACHIM y DAUGSCHIES (2000), les llevan a afirmar que, en el caso de las hembras reproductoras, suelen estar infestadas predominantemente por estrogilos (sobre todo *Oesophagostomum* spp.), *Ascaris suum* y *Eimeriae*, y en menor grado, *Trichuris suis*, *Hyostrogylus rubidus* y *Strongyloides ransomi*. Los animales en edad de recría y cebo son infestados básicamente por estrogilos gastrointestinales y coccidios, y más tarde por *Ascaris suum*. Las apreciaciones de estos autores coinciden con nuestros resultados, lógicamente en lo que se refiere a *Ascaris suum*.

Respecto a la raza ibérica, el ciclo productivo tradicional tiene una duración de 18 meses aproximadamente, divididos de la siguiente forma: 2 meses de cría que acaban con el destete; 12-13 meses de recría; y 3 meses de cebo en montanera (RUIZ, 1994).

Evidentemente, existen muchos factores que inciden directamente sobre la seroepidemiología de esta enfermedad. Sin embargo, creemos que en nuestro estudio, al tratarse de un muestreo no homogéneo, ha sido la edad de los cerdos analizados un factor determinante.

Hemos detectado que la media del % EIA para los animales de recría (-4'3) ha sido sensiblemente inferior a las obtenidas para los animales de cebo (16'9) y reproductores (19'5). El comportamiento de la población de animales más jóvenes ha sido de menor reactividad que los animales adultos.

Prácticamente la totalidad de los animales de recría se sitúan en niveles de reactividad por debajo del 20 %, es decir, en niveles considerados como negativos. Las diferencias entre el grupo de los animales de recría con el resto de edades son muy significativas ($p < 0'0001$). Sin embargo, no existen diferencias significativas entre los grupos de cebo y reproductores ($p = 0'17$).

DISCUSIÓN

Respecto a seroprevalencias obtenidas, los índices más altos los poseen los animales reproductores y en edad de cebo, y dependiendo del límite diagnóstico elegido, los resultados por edades para la región de Extremadura se cifran entre un 17'6 y un 27'3 %. Como se puede ver, la cifra más baja de las registradas corresponde al recrío (7'4-14'3), seguida muy de lejos, por los datos procedentes del cebo (23'8-35'0) y reproductores (26'4-40'2), con lo que podemos comprobar que las cifras señaladas para la seroprevalencia de recrío, representan menos de un tercio que las observadas en animales de mayor edad (cebo y reproductores).

La mayoría de los estudios de prevalencias por edades, no están realizados por métodos serológicos, ni sobre cerdos explotados en extensividad, pero todos suelen coincidir en mayores índices de parasitación en las edades de cebo y reproductores.

En ese sentido, se dirigen las apreciaciones de ORTEGA en 1998, cuando dice que en las explotaciones intensivas europeas de mayor tamaño, el helminto más prevalente es *Ascaris suum*, sobre todo al final del cebo y en las reproductoras, hecho éste que también parece darse, según nuestros resultados, en el cerdo ibérico extensivo. El contagio por *Ascaris suum* se produce en la explotación extensiva ya desde la lactancia, mientras que en las explotaciones intensivas tecnificadas el contacto con el parásito se produce en el cebo.

Al igual que nosotros, ALONSO DE VEGA y RUIZ DE YBÁÑEZ (1999) coinciden en que esta parasitosis afectan a los cerdos después del destete o en período de engorde.

En mantenimientos intensivos cerrados, la incidencia es muy baja y sólo en determinadas condiciones, puede hacer presencia el proceso. En sistemas de alojamientos modernos, con un correcto protocolo "todo dentro - todo fuera" con limpieza y desinfección de las salas de partos y destete antes de 30 días, la probabilidad de infestación por transmisión vertical es muy baja. Es en la fase de engorde, donde la contaminación fecal suele ser más fuerte y los cerdos permanecen tiempo suficiente para permitir la transmisión (MORA FRANQUÉS, 1998). Estas mismas aportaciones son realizadas por JOACHIM *et al.* (2001), en sus investigaciones sobre la parasitación por helmintos de

cerdos con distintos sistemas de manejo del norte de Alemania. Estos autores comprueban que, a medida que el período de cebo va llegando a su fin, la posibilidad de contagio aumenta, demostrando también que los sistemas de manejo con sólo cambios parciales en lo que representa la movilidad de los animales, presentan mayores índices de parasitación por *Ascaris suum* que aquellos que llevan a cabo el sistema "todo dentro - todo fuera".

A veces, si el sistema "todo dentro, todo fuera", no se ejecuta correctamente, y las tareas de limpieza y desinfección, no son las adecuadas, ocurre como en la experiencia de NILSSON y MARTINSSON, quienes en 1980, observan a partir de 628 muestras fecales de una explotación de cebo en Suecia, que el 50 % de los cerdos presentaban resultados positivos al recuento de huevos de *Ascaris*, porcentaje superior al obtenido por nosotros, en esa edad.

Aunque el estudio tuvo lugar en cerdos explotados intensivamente, coincidimos plenamente con los resultados obtenidos en un trabajo de investigación que se llevó a cabo en EEUU a nivel nacional y que abarcó a 22 Estados, observando que los ascáridos se encontraban en el 81 % de los cerdos de cebo y en el 65 % de las cerdas reproductoras (TODD, 1972-73, citado por CORWIN y BRAUER, 1980).

Inferiores son los resultados obtenidos por DE DEKEN (1984) en Bélgica, con una positividad a *Ascaris suum* del 13'3 % en cerdas reproductoras, 23'5 % en verracos y un 10'7 % en cerdos de engorde, posiblemente debidos a unas mejores condiciones higiénico-sanitarias y de manejo.

En Dinamarca, las tasas de prevalencia observadas tomando como referencia la detección de huevos de ascáridos en las heces muestran unos porcentajes similares tanto en cerdos de cebo (30 %) como en cerdas de renuevo (25%) (ROEPSTORFF y JORSAL, 1989). CARSTENSEN *et al.* (2002) encuentran prevalencias del 28 % para cerdos destetados, 33 % para animales en cebo y un cuatro por ciento en cerdas reproductoras. Mucho mayores son las positividades encontradas por ROEPSTORFF (1997), quien haciendo uso de antígeno L2/L3 encuentra en tres explotaciones infestadas, una seroprevalencia del 97'8 % en cerdos de cebo, y del 72'5 %, en reproductoras.

DISCUSIÓN

ROEPSTORFF y NANSEN en 1994 coinciden parcialmente con nosotros al observar que *Isospora* y *Strongyloides* son más frecuentes en lechones lactantes o recién destetados, *Ascaris* y *Trichuris* en el cebo, y *Oesophagostomun spp.*, *Hyostrogylus* y *Eimeria spp.* en reproductores.

Respecto al porqué en este trabajo se han obtenido mayores reactividades en los animales de mayor edad (cebo y reproductores), podrían hacerse muchas especulaciones. Se podría pensar que los animales en edad de recría necesitan para una adecuada formación esquelética y muscular, grandes extensiones de terreno, es decir, necesitan verdaderas condiciones de extensividad para su crianza, con lo cual las posibilidades de entrar en contacto con sus propias deyecciones son siempre menores y en todo caso, con tiempo suficiente para que los rayos solares destruyan los elementos de diseminación.

Podríamos pensar también que, ya que dentro del grupo de recría hay animales reaccionantes, éstos pudieran serlo por infestaciones reales o también, por tratarse de lechones que podrían haberse incorporado a este grupo de edad y que estuvieran mostrando tasas de anticuerpos debidas a la inmunidad adquirida de forma pasiva a través de los calostros maternos, hecho que no es nada extraño, si ya hemos demostrado que los reproductores son animales con las mayores tasas de reactividad.

En contraposición a esto, siempre podríamos decir que un pasto puede ser mejor hábitat para el huevo que los purines de las explotaciones intensivas, donde puede existir una temperatura excesiva, crecimiento de hongos, condiciones de anaerobiosis, etc. Pero es que además, en un suelo de cemento o de rejillas, en un recinto cerrado, como consecuencia del menor espacio, existe más probabilidad de contagio como consecuencia de la coprofagia, contaminación fecal de pezones, etc.

Pero ocurre que, si la limpieza es periódica y adecuada, no se le da el tiempo suficiente a los huevos para que estos sean infestantes y por tanto, no eclosionan ni invaden tejidos. Sí que hay oportunidad de pastar y hozar en el suelo y beber en charcas, pese a la dispersión de las heces. Así, aunque no exista contaminación fecal aparente, dada la enorme contaminación del medio que provocan las hembras de *Ascaris*, y su gran resistencia, basta que existan o hayan existido algunos portadores para que se puedan ingerir huevos, en

este caso infestantes y por tanto, con posibilidad de migración por los distintos órganos del cerdo.

Ante tantas especulaciones, se puede concluir que una explotación intensiva con sistemas de manejo "todo dentro - todo fuera" y con excelentes condiciones de desinfección e higiene, es una explotación en la que no deben existir problemas de ascariosis, ya que se están impidiendo el ciclo biológico del parásito en el momento que se desee. Si además introducimos el factor "desparasitación" mediante fármacos, el problema está resuelto. De igual modo, y casi con la misma efectividad, pero en este caso, sin la intervención del hombre y sí de la propia naturaleza, podemos conseguir explotaciones libres de *Ascaris*, simplemente cuando su sistema de manejo se establezca en verdaderas condiciones de extensividad.

Evidentemente, el peor de los sistemas, es el llamado semiextensivo, en el que se hace uso de corrales más o menos grandes, en los que las condiciones higiénicas brillan por su ausencia y en los que los cerdos acceden a sus propias deyecciones con relativa facilidad. Eso y su espíritu gregario, son las razones, pensamos nosotros, por las cuales los animales adultos (cebo y reproductores) presentan mayores tasas de reactividad.

Desgraciadamente, en Extremadura y en general en el resto de España, la mayoría de la producción de cerdo ibérico no se lleva a cabo en verdaderas condiciones de extensividad. Solo el período de cría en montanera cumple esas condiciones. Es patente, sobre todo en el caso de los reproductores, su confinamiento en cercas más o menos amplias que facilitan evidentemente el contagio y que, los sitúa como agentes esenciales desde el punto de vista epidemiológico, y eliminadores primarios de formas infestantes de parásito, al pastar sobre las distintas partes de la explotación.

En lo concerniente a respuestas inmunitarias, y como en nuestro trabajo, los animales adultos han sido los más reactivos, es preciso citar aquí que, en la ascariosis porcina se producen muchos falsos positivos, ya que muchos contagios no acaban nunca en una infestación demostrable, con vermes en el intestino. Esto explica que la reactividad de los animales aumente de forma muy clara con la edad, incluso cuando muchos no están parasitados. También sabemos que hay animales adultos con vermes de *ascaris* adultos en el intestino que no presentan apenas reactividad por ELISA. La

inmunidad en la ascariosis es por tanto, realmente compleja y, siempre deberemos tenerlo en cuenta.

5.3.- SOBRE LOS RESULTADOS SEGÚN LA TEMPORALIDAD DE MUESTREO.

El ciclo evolutivo directo de *Ascaris suum*, condiciona enormemente su presencia en los regímenes extensivos de explotación, como es el caso del cerdo ibérico en Extremadura. Aunque este parásito presenta una gran prolificidad y resistencia a los factores disgenésicos del medio externo, las condiciones medioambientales (altas temperaturas en verano y bajas en invierno, con escasas precipitaciones) y de manejo de esta especie porcina, limitan en gran medida su parasitismo, caso contrario de lo que ocurre en el cerdo blanco o cualquier otro criado en sistemas intensivos.

Normalmente la infestación se realiza tras la ingestión de huevos infestantes con los alimentos o a partir de contaminaciones epiteliales de las madres a las que tienen acceso los lechones, hechos éstos menos acusados en los sistemas puramente extensivos de cría del cerdo ibérico. Sin lugar a dudas, este tipo de explotación, con todas las variables derivadas de las condiciones edáficas, climáticas y zootécnicas, impide la presentación de parásitos de ciclo directo al disminuir sensiblemente la posibilidad de transmisión por la ruta fecal-oral. Además las explotaciones extensivas se caracterizan por presentar suelos arenosos expuestos en verano a la acción directa del sol, con lo que el calor y la desecación destruyen en pocas horas o días, las formas infestantes del parásito.

En los resultados obtenidos por nosotros según la temporalidad del muestreo, parece existir una tendencia hacia mayores índices de seroprevalencia en los meses de invierno que en los meses de calor. Concretamente, los mayores tantos por ciento de reactividad han sido para los meses de octubre, noviembre, diciembre y enero.

Aunque con temperaturas frías se puede dar lugar a la destrucción de los elementos de diseminación de *A. suum*, lo más normal es que, si no existen temperaturas extremas, cosa que no ocurre en Extremadura, se produzca un

estado de latencia hasta que, temperaturas superiores permitan continuar su desarrollo embrionario. Además, las temperaturas frías provocan que los animales pasen más tiempo al resguardo de las condiciones climáticas adversas, en las cochiqueras o casetas del camping, de tal forma, que por una parte, se aumentan las posibilidades de contagio al existir un contacto más íntimo entre animales, a la vez que se accede con mayor facilidad a las propias deyecciones, y por otra, esa estancia prolongada en el tiempo, en dichos lugares, conlleva un aumento de la temperatura del lugar, temperatura que junto con una humedad relativa adecuada, favorece el desarrollo del huevo. Esto explicaría que en la edad de cebo, se obtengan mayores tasas de reactividad en los meses fríos.

Se ha observado que los gradientes de infectividad más altos dentro de una explotación semiextensiva, se dan en animales con acceso a alojamiento de los cerdos. Aunque la mayor cantidad de huevos están fuera de dicha casa, en ella es donde mayor número de huevos embrionados existen, según indican ROEPSTORFF *et al.* (1999). Así pues, el grado de transmisión más alto se encuentra en los propios alojamientos de los cerdos (hasta 201 huevos/día han sido hallados) y ese grado de transmisión va en disminución según nos alejamos del alojamiento, hasta ocho huevos/día en los alrededores y uno o menos de un huevo/día en zonas más distantes (ROEPSTORFF *et al.*, 2001). Este es el verdadero problema de las explotaciones semiextensivas.

También hemos comprobado que, como consecuencia de la acción de las altas temperaturas, los meses de calor ofrecen tasas de reactividad más bajas. Eso ocurre en los meses de junio y julio, pero no en agosto, que también es un mes de calor, en cuyo caso solo es achacable al factor explotación donde haya podido existir peores condiciones de higiene, hacinamiento, no desparasitación, etc. Nuestra observación es apoyada por LARSEN y ROEPSTORFF quienes en 1999 publican que en verano desaparece mayor número de huevos de las deposiciones que en invierno y otoño. Además, prosiguen diciendo que influye mucho la altura de la hierba así como el hecho de estar envueltos en el barro, ya que conservan la humedad, aumentando así la supervivencia de los huevos. Por eso, en explotaciones extensivas es recomendable la rotación de los campos, aunque no se consiga la completa eliminación de los parásitos.

DISCUSIÓN

Lógicamente las épocas de calor intenso con temperaturas extremas, provocan la desecación del huevo y por tanto se impide el contagio entre animales. Esta situación es frecuente en Extremadura, donde las condiciones de extensividad provocan la imposibilidad de desarrollo de los huevos, incluso en sitios más o menos protegidos por sombras. Únicamente, aquellos terrenos próximos a las charcas donde beben los cerdos, podrían ser terrenos adecuados para la supervivencia de los huevos, al estar en unas condiciones de humedad adecuada y protegidos de la luz solar por encontrarse envueltos en el barro.

Las tasas de reactividades encontradas en los meses de primavera han sido realmente bajas. Sabemos que con temperaturas inferiores a 15 °C, los huevos pueden sobrevivir pero no se desarrollan. Así, con el incremento de las temperaturas a principios de verano se puede provocar el desarrollo embrionario de esos huevos acumulados en el período invernal (NILSSON, 1982; ROEPSTORFF *et al.*, 1999). Pero también es cierto que tal hecho motiva que los animales dejen de estar hacinados en sus refugios o cabañas y recorran zonas más o menos extensas de la explotación. Este comportamiento implica que, las posibilidades de contacto con formas infestantes del parásito, disminuyan considerablemente.

Sin embargo, aunque nuestros resultados están de acuerdo con las explicaciones dadas anteriormente, no queremos dar excesiva fiabilidad a los mismos, ya que los datos agrupados de esta manera, al no ser un muestreo homogéneo, el factor edad influye mucho. Pero tampoco podemos ser tajantes y asegurar que la época del año no influye en los resultados, sino más bien que, los datos agrupados de esta manera, no permiten demostrar la diferencia.

No sólo la fecha tiene una relación clara con el clima, sino también otros muchos factores que varían con el tiempo (parideras, densidad de población, etc.). Todos ellos pueden influir en algo que ya de por sí es complejo, variable y persistente como la respuesta a reinfestaciones naturales. Estos argumentos nos llevan a concluir que no hay nada ni nadie que pueda predecir si va a existir una estacionalidad de la respuesta serológica, ni en qué sentido se produciría.

Aunque la metodología diagnóstica ha sido distinta, nuestros resultados no coinciden con las afirmaciones de MENZIES *et al.* (1994), en las

que el mayor número de decomisos de hígados con manchas de leche debidas a infestación por *Ascaris* se produce alrededor del mes de septiembre, mes que en nuestro trabajo alcanza niveles bajos de reactividad media. Estos mismos autores, encuentran las menores tasas de decomisos en el mes de abril, que en nuestro caso también presenta una reactividad media muy baja.

En Extremadura, GARCÍA-VALLEJO en 1999 encuentra que *Ascaris suum* muestra una mayor prevalencia durante los meses primaverales y otoñales, siendo más escasa su presencia en los meses veraniegos, observando bajo número de casos entre los meses de mayo y septiembre. Los porcentajes de prevalencia según los meses obtenidos fueron: enero (38 %), febrero (44'6 %), marzo (43'3 %), abril (20 %), mayo (9'8 %), junio (12'9 %), julio (28'2 %), septiembre (20'3 %), octubre (47'5 %), noviembre (14'5 %) y diciembre (31'9 %). Estos datos coinciden perfectamente con los nuestros, excepción hecha de los meses primaverales donde nosotros no detectamos esa elevación.

En porcino ibérico también, PEREZ-MARTIN *et al.* en 1991, denuncian que durante los meses de otoño e invierno los porcentajes son más elevados que en primavera-verano.

Como ya se comentó en el capítulo de resultados, en nuestro trabajo hemos encontrado diferencias significativas entre todos los meses del año, pero es curioso cómo son los meses de enero y noviembre, donde esas diferencias se hacen más acusadas. Lógicamente, estos meses son fundamentales en la finalización de estos animales en la denominada montanera, que es justamente la época de su vida que se desarrolla en plena libertad y auténticas condiciones de extensividad, algo que no ocurre prácticamente a lo largo del resto de la vida del animal.

En los resultados obtenidos por nosotros, la estacionalidad no parece influir en exceso al ganado de recría, el cual se mantiene en tasas muy bajas de reactividad durante prácticamente todos los meses del año, con la excepción del mes de diciembre, posiblemente por ser animales de transición, próximos a la edad de cebo. Además, los mayores contingentes de animales de recría se concentran durante el verano y de cara a la montanera que suele comenzar en el mes de noviembre. Este hecho hace que además del factor de alimentación sea de gran importancia la disponibilidad de agua tanto más si tenemos en cuenta que el cerdo es un animal con una transpiración pobre, lo

DISCUSIÓN

cual hace necesario que se busque alternativas para paliar este inconveniente. Uno de los hábitos que utiliza para resolver esta deficiencia es bañarse en charcas, en restos de zonas húmedas y hasta en sus propios excrementos y orines.

Sin embargo, sí manifiestan diferencias significativas los animales en edad de cebo en los meses de montanera, precisamente el tipo de animal asociado a dichos meses.

Igual que ocurría en el recrío, existe en los reproductores poca variación a lo largo de los distintos meses del año, en cuanto a reactividad se refiere. Evidentemente, esto es debido a que sus condiciones de manejo son siempre las mismas a lo largo del tiempo manteniéndose en las mismas cercas.

Todo lo anteriormente expuesto se corrobora con la obtención de los mayores índices de seroprevalencia en el mes de enero con un 34'3 % de animales que presentan reactividades superiores al 40 %, es decir, reactividades enmarcadas en una clara positividad. Es por tanto el mes de enero de finalización y acabado del cerdo completando la fase de cebo, donde los animales, debido a su elevado peso y pérdida de la condición motora, permanecen más tiempo en los mismos lugares. También su espíritu gregario aumenta, y por tanto las posibilidades de contagio son más elevadas. Esta seropositividad del mes de enero se hace más patente en la provincia de Badajoz llegando al 51'7 %.

5.4.- SOBRE LOS RESULTADOS SEGÚN CLIMATOLOGÍA Y POBLACIÓN.

Los huevos de *Ascaris suum* son muy resistentes en el medio ambiente y pueden mantenerse viables durante más de 2 años (para algunos autores hasta 10 años). Este período tan largo está influenciado tanto por la temperatura como por la humedad. Las temperaturas elevadas acortan el período de vida de los huevos. A 50 °C no sobreviven más de 8 horas, 30 segundos a 60 °C y a 90 °C son destruidos en menos de 10 segundos. Entre 5 y 24 °C, pero en ambiente seco, dejan de ser infestantes en 3 meses. Las bajas temperaturas igualmente destruyen los huevos. Así, entre 4 y 25 °C, con una humedad del

80 %, la supervivencia no sobrepasa los tres meses. Temperaturas de congelación, de -20 ó -30 °C los mantienen viables también durante unos tres meses (EUZEBY, 1963; SOULSBY, 1987).

Una verdad indiscutible es que el huevo de *Ascaris*, una vez que sale al medio, pese a ser extraordinariamente resistente a las condiciones ambientales adversas, el clima/microclima influye en su supervivencia, dosis y ritmo de infestación, que a su vez condiciona la respuesta serológica.

PEREZ-MARTIN *et al.* en 1991 argumentan que el carácter monoxeno (ciclo biológico directo) de *Ascaris suum* está condicionado en gran medida por la humedad; por ello, los porcentajes de parasitación se incrementan en los meses en los que este factor climático es más patente. No debiendo olvidar que se puede obtener un microclima adecuado, dentro de un clima inhóspito para el huevo embrionado.

En el capítulo anterior, aún teniendo en cuenta el factor edad como un factor, quizás el más influyente en el muestreo no homogéneo que hemos realizado, observamos una clara tendencia de mayor reactividad y seroprevalencia en los meses más fríos. Es evidente que existe una relación importante entre esta enfermedad y las condiciones climatológicas. Este hecho, nos llevó a profundizar en las investigaciones al respecto, para lo cual correlacionamos las distintas constantes meteorológicas que se dan en Extremadura, con las reactividades de los sueros obtenidas por nosotros.

No menos importante que la climatología, es el número de cerdos que mantienen cada comarca, reflejado en los censos correspondientes, y la densidad de animales, ya que sabemos que el hacinamiento propicia condiciones de higiene inadecuadas y por ende, mayores posibilidades de infestación.

En nuestro trabajo demostramos que efectivamente existe una correlación positiva muy importante, sobre todo entre la reactividad de los animales chequeados y la edad, censo y densidad de población.

De menor entidad, pero también importante, es la correlación positiva que obtenemos con los datos referidos a humedad. Demostramos que, si bien la edad influye mucho, ésta es independiente a factores climatológicos como

DISCUSIÓN

la humedad y por supuesto censo y densidad de población. Nuestras investigaciones nos indican que la reactividad de los animales más jóvenes no tiene nada que ver por ejemplo, con la humedad. Este hallazgo está apoyado por el hecho de que el ganadero es consciente de que la edad de recría es decisiva para obtener las máximas producciones. Por eso, las condiciones de manejo para estos animales, son también las mejores evitando en lo posible los efectos negativos o perjudiciales que la climatología pueda acarrear.

Sin embargo, la edad de recría, no se escapa de la influencia que tiene el censo y densidad de población donde, como no podía ser de otra manera, el mayor número de animales y sobre todo, el mayor número de animales en menor espacio (como consecuencia de un elevado auge en la comercialización y precios), implica obligatoriamente mayor grado de contagio y por supuesto disminución de la higiene de la explotación. Observaciones similares han sido realizadas por LISBETH *et al.* (2001), demostrando que la infectividad aumenta a medida que la densidad animal es mayor.

Los animales adultos, sobre todo los animales en edad de cebo, también son más reaccionantes cuanto mayor es el censo y la densidad de animales pero, al contrario que ocurría en el recría, en este caso también existe una correlación importante con la humedad, aumentando la reactividad de los sueros a medida que aumenta la humedad. Esto se explica acudiendo a las condiciones de manejo de los animales en cebo, porque no olvidemos que uno de los puntos comunes en casi todas las explotaciones de cerdo ibérico tradicionales ha sido la extrema austeridad en cuanto a las instalaciones necesarias para su funcionamiento. No obstante, los requisitos exigidos por las Administraciones mediante los programas de lucha contra la Peste Porcina Africana y las inquietudes que han ido surgiendo en los ganaderos por optimizar sus procesos productivos, han ido dotando a las explotaciones de cerdo ibérico de nuevas infraestructuras.

Parece ser que tanto en explotaciones intensivas como extensivas, el número de reproductoras influye notablemente en la presentación de endoparasitosis (ORTEGA, 1998). En Extremadura, la mayoría de las explotaciones posee un número de reproductoras entre 1 y 9, con una media por explotación de 3'57 y 26 animales cebados. Le siguen las explotaciones que no poseen reproductoras que sólo se dedican al cebo, y explotaciones con

un número de reproductoras entre 10 y 49, dando lugar a 150 animales cebados por explotación (ESPÁRRAGO *et al.*, 1993).

Así pues, durante la realización de este trabajo hemos asistido a una verdadera masificación, debido al auge y precios del porcino ibérico. Afortunadamente, la cría puramente extensiva, ha sido y será siempre la misma o con ligeras variaciones, ya que existe un factor limitante muy importante como es la presencia de encinas. Así, en el año 1993 se cebaron en montanera un total de 333.000 cerdos en Extremadura y un número muy similar (343.000) con pienso. En años anteriores y en años siguientes, el número de cerdos cebados en montanera (1998/99: 360.000 cerdos) ha sido similar dependiendo de la climatología, mientras que el número de animales cebados con pienso ha ido en aumento y así en la campaña 1998/99 se han cebado 500.000 animales.

Tradicionalmente, las corraladas han sido albergues de poca altura, con pocos respiraderos, y puertas exageradamente pequeñas que impedían la entrada de personas en posición erecta, con paredes de tapia de tierra o de piedra superpuestas, suelo terrizo y cubierta de enramada tupida de paja, juncos o hierba. Tales deficiencias se justificaban por la arraigada y errónea creencia de que proporcionaban mejor temperatura para la crianza de los lechones, ignorando los graves reparos de la insuficiente ventilación e iluminación, las dificultades para observar y manejar los animales, la falta de limpieza e higiene y la propensión para el padecimiento de enfermedades.

Finalmente, cuando las producciones de las dehesas se ven recortadas principalmente por acciones climatológicas, los animales entran en la montanera en su fecha de inicio, pero su reposición en este régimen alcanza el 50 % del "completo", esto es, entre 2 y 3 arrobas (23 a 35 kg.), no siendo suficiente para el cebo o acabado. A partir de entonces el cebo se completa suministrando raciones de piensos compuestos equilibrados, que corresponden al recebo propiamente dicho, hasta reponer de 1 a 2 arrobas más. En estas situaciones los animales son confinados a espacios más reducidos para suministrarles el pienso así como el agua correspondiente. Los corrales entonces se tornan en lugares con abundantes zonas embarradas con la humedad adecuada para el desarrollo del huevo de *Ascaris suum*.

5.5. - DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.

5.5.1. - Por Provincias.

En Extremadura, el 10 % de las explotaciones existentes son dedicadas a la cría del cerdo ibérico en extensividad. El resto son explotaciones familiares con no más de 5 reproductoras y un máximo de 25 animales de cebo. Del 10 % anteriormente citado, es un porcentaje mínimo el que representan las explotaciones con sistemas de explotación verdaderamente extensivos. Lo más frecuente es encontrar explotaciones denominadas semiextensivas que junto a las explotaciones familiares representan la casuística más grande en cuanto a ascariosis porcina se refiere, según nuestra propia experiencia.

En las 205 explotaciones estudiadas, hemos obtenido, haciendo uso del límite diagnóstico más exigente, una seroprevalencia del 17'6 % para el conjunto de la región. Estos índices de seropositividad son más elevados en la provincia de Badajoz (20'6) que en la provincia de Cáceres (12'8). Exactamente igual ocurre con la reactividad media de los sueros sanguíneos analizados, que en Badajoz toma valores medios de 13'7 % y en Cáceres de 1'0 %, valor que oscila por tanto en niveles muy próximos al control negativo utilizado. A la vista de los resultados, es evidente que existe una mayor presencia de *Ascaris suum* en la provincia de Badajoz.

Para nosotros, estas diferencias entre provincias se explican como consecuencia de la mayor tradición en la cría del cerdo ibérico en Badajoz. No olvidemos que Extremadura posee más del 50 % del cerdo ibérico del total nacional, y por provincias, el 40 % corresponde a Badajoz (PENCO, 1995). Esta elevación del censo y consecuentemente de la densidad de población, conlleva como ya quedó patente en el capítulo anterior, peores condiciones de higiene y mayor grado de infestación.

Sin embargo, creemos que el escaso grado de higiene en las explotaciones porcinas es algo generalizado en ambas provincias. En Extremadura, la mayoría de las explotaciones porcinas muestran graves deficiencias higiénicas. Este hecho provoca que el 55'1 % de las mismas sean explotaciones positivas al presentar al menos un animal seropositivo. Pero es que además, si consideramos como límite diagnóstico el que se decanta por

mayores sensibilidades, este porcentaje se sitúa muy próximo al 70 %, niveles realmente preocupantes para nuestra cabaña porcina.

El hecho de que las condiciones higiénicas sean deficientes en ambas provincias, lo refleja nuestros hallazgos situando a la provincia de Badajoz, con un 55'0 % en absoluta igualdad con la provincia de Cáceres (55'4 %) en lo que a seroprevalencias por explotaciones se refiere, datos que por otra parte, se deberían tener en cuenta para mejorar las condiciones higiénico-sanitarias de las mismas.

Otro factor importante en la cría del cerdo ibérico es el escaso o nulo uso de desinfectantes en las explotaciones porcinas, que contrariamente a lo que podía pensarse, alargan la supervivencia de los huevos de los parásitos. Son escasas las explotaciones donde se utiliza formol a concentraciones del 5 %, que según EUZEBY (1963), es uno de los productos más eficaces para la destrucción de los huevos de *Ascaris*.

Mayor es el número de explotaciones que sobre todo en las entradas y salidas para vehículos, utilizan derivados del cresol, que según MIELKE y HIERPE (1998) destruyen tanto los huevos como las larvas de *A. suum*. Por tanto, este fenómeno de utilización mínima de agentes químicos para el control de esta parasitosis, podría ser otro factor que explicaría las prevalencias obtenidas por nosotros, sobre todo a nivel de explotaciones.

Creemos también que el tipo de explotación juega un papel muy importante, y aunque la ascariosis porcina está más que demostrada en las explotaciones intensivas, su control es fácil si se adoptan todas las medidas necesarias de limpieza y desinfección, ya que dicho tipo de explotación, así lo permite. De igual modo, pensamos que tampoco existen demasiados problemas en la cría extensiva del cerdo ibérico, eso sí, por muy diferentes razones. Sin embargo, coincidiendo con ALONSO DE VEGA y RUIZ DE YBÁÑEZ (1999), es más frecuente en cerdos en un régimen semiextensivo o criados en parques de tierra, donde la contaminación del suelo juega un papel muy importante a la hora de la transmisión.

El verdadero punto negro de la cría del cerdo ibérico, no tanto cuando se produce en condiciones verdaderas de extensividad, es el control de las infestaciones, debido a unos inadecuados alojamientos y prácticas higiénico-

DISCUSIÓN

sanitarias. El desarrollo, supervivencia y transmisión de los parásitos porcinos en el medio ambiente dependen de un variado número de factores entre los que destacan las prácticas de manejo que influyen en el grado de contaminación del medio y, por tanto, en el riesgo de presentación de las parasitosis.

Se ha comprobado que la tasa de prevalencia de la infestación por *Ascaris* es menor en granjas con mejores condiciones sanitarias (VERCRUYSSSE *et al.*, 1997). Incluso en un local libre de helmintos pero de escasa higiene, los cerdos alcanzan un alto grado de protección frente a una infestación experimental (URBAN *et al.* 1988).

En Dinamarca, los sistemas intensivos de alta producción están caracterizados por un alto grado de higiene que impide el desarrollo embrionario de los huevos y por tanto, el desarrollo larvario. En nuestra región, en el mejor de los casos, se aplican antihelmínticos de manera regular teniendo un escaso o nulo efecto adicional. En los manejos tradicionales, donde las condiciones favorecen la transmisión de helmintos, el control debe estar basado en la mejora de los niveles de higiene combinado con el uso de antihelmínticos. A menudo, las infestaciones son subclínicas, lo cual no motiva el cambio en las prácticas de higiene en el control, lo que da lugar a una permanente acción del parásito.

En otros casos, de manera rutinaria, los cerdos se someten a tratamientos antiparasitarios periódicos, lo cual provoca que los efectos curativos sean transitorios, ya que los cerdos se reinfestan continuamente. Sin embargo en los sistemas puramente extensivos, se lucha contra el parásito haciendo uso de la rotación de pastos, alternando con otra especie animal, etc. Es práctica habitual en esta región, al igual que en el resto de España, el uso indiscriminado de antihelmínticos, lo que podría conllevar la adquisición de resistencias a dichas drogas por parte de *Ascaris suum*, lo cual es muy grave ya que se trata de un parásito con un fuerte potencial reproductivo, pudiendo transmitir esa resistencia a su progenie (ROEPSTORFF y NANSEN, 1994).

PÉREZ MARTÍN *et al.* (1996), coinciden con nosotros al referir que en la explotación del cerdo ibérico de manera extensiva, las características sanitarias de las mismas dejan mucho que desear, siendo deficientes por la

ausencia de prácticas quimiopreventivas, así como por las escasas condiciones higiénicas de los alojamientos. Estos datos sitúan a nuestra ganadería porcina de montanera en un deficiente nivel sanitario con respecto a otros países europeos. Es importante no olvidar y tener en cuenta que la infestación por *A. suum*, probablemente nos esté indicando una higiene deficiente en la explotación.

Una práctica habitual en la cría del cerdo ibérico, es el anillado de la jeta, para impedir la destrucción de terrenos y sobre todo para evitar el secado de los árboles como consecuencia de daños irreparables en sus raíces. Podríamos pensar que tal vez este fenómeno contribuyera a frenar la posibilidad de contagio. Sin embargo esta práctica de manejo no influye en los niveles de transmisión de *Ascaris suum* (MEJER *et al.*, 1999).

No existe ningún trabajo publicado que tenga unas características similares al nuestro, ya que hasta ahora, la mayoría de las encuestas epidemiológicas se han llevado a cabo por métodos coprológicos, evidencia de adultos o mediante observación de lesiones orgánicas, sobre todo a nivel hepático.

Además, las encuestas epidemiológicas realizadas por métodos serológicos, se han elaborado en países donde solamente existe la cría intensiva del cerdo, o en el mejor de los casos, sistemas semiextensivos con corrales más o menos amplios.

Si a todo esto, añadimos que el cerdo ibérico solo existe en determinadas localizaciones de España, es aún más difícil comparar nuestros resultados con los obtenidos por otros autores.

De cualquier modo, en las investigaciones realizadas por ROEPSTORFF en 1998, se demuestra que existe correlación entre los resultados obtenidos por coprología (Mc. Master) y los obtenidos por serología (ELISA indirecto) en animales de recría y en edad de cebo, pero no para las hembras lactantes y lechones. En todo caso las coprovalencias fueron siempre más bajas que las seroprevalencias. Este autor concluye que la técnica ELISA se acerca o da una impresión más cercana a la realidad.

DISCUSIÓN

Así, por métodos coprológicos, se han detectado prevalencias del 25'6 % en Corea (HWAN JANG, 1975), del 22'9 % y 42'5 % en la zona Central y "Sun Moon Lake" de Taiwan respectivamente (WANG, 1978), y del 2 % por LEE *et al.* (1987) en Malasia. KENNEDY *et al.* (1988) evidencian, tras analizar 2.822 muestras fecales, parasitaciones por *Ascaris suum* en el 70 % en los cerdos investigados en 84 granjas de 15 estados de EEUU. En Italia, en la provincia de Modena, SOLDATI *et al.* (1981), detectan un 35 % de granjas parasitadas con *Ascaris suum* y un 4'5 % de cerdos positivos sobre más de 1500 muestras.

Por otro lado, POGLAYEN *et al.* (1981) observan una parasitación en torno al 22'8 % en la zona de Lombardía. Estos autores, en 1984, obtienen un 37'5 % de granjas positivas y un 7'21 % de cerdos con *Ascaris suum* sobre casi 2.000 muestras; en el año 1985 un 34 % de las granjas de Bolonia y Ravenna presentaban parasitación por este nematodo. TRALDI *et al.* (1988), en el norte de Italia, vuelve a corroborar los resultados anteriores con índices de positividad del 22 % de granjas parasitadas y del 7 % de los porcinos analizados. MARTINI *et al.* (1988) describen una prevalencia media a lo largo del año del 3'2 %. PRETI *et al.* (1990), en su estudio de la infestación por *Ascaris suum* en cerdos criados en intensivo en el norte de Italia, encuentra una prevalencia del 24 %.

En Australia, MERCY *et al.* (1989) evidencian incidencias más elevadas, llegando hasta el 45 % de granjas positivas a *Ascaris suum* del total de las explotaciones porcinas muestreadas. Por otra parte, en las Antillas francesas, ESTERRE y MAITRE (1985) evidencian parasitaciones por este ascárido del 17 %, valor incrementado al doble en la Isla del Príncipe Eduardo (Canadá) en un estudio sobre 386 cerdos, realizado por BERNARDO y DOHOO (1988). NILSSON y MARTINSSON (1980) a partir de 628 muestras fecales en una explotación de cebo, cuyos animales provenían de 56 granjas de producción situadas en tres regiones del sudoeste de Suecia, observaron que el 50 % de los cerdos dieron resultados positivos al recuento de huevos de *Ascaris*. La incidencia varió notablemente de unas regiones a otras (33'9-55'8 %).

En lo que respecta a prevalencias por parásitos adultos encontrados a nivel intestinal, en Suiza, INDERMÜHLE (1978) evidencia *Ascaris suum* en un 3'3 % de los animales sacrificados. Similares resultados obtienen tanto ROMANIUK *et al.* (1983) como BÜHLMAN *et al.* (1983), con parasitaciones

del 4'9 % en Rumanía y del 6'4 % en Alemania. En Mozambique, JURASEK (1986) aporta datos del 7'5 % de parasitación. Mayor número de referencias bibliográficas sobre *Ascaris suum* encontramos en los estudios de los parasitólogos americanos, aportando parasitaciones más elevadas a las anteriormente citadas. Así, BENNET y COPEMAN en 1970 (citado por CORWIN y BRAUER, 1980) realizaron un estudio en 246 cerdos de cebo, en Indiana, desde Kentucky, Arkansas, Missouri y Tennessee, demostrando en el 95 % de los animales existía parasitación por helmintos, con una media de 64 vermes por cerdo infestado. El 65 % de los animales parasitados lo estaban por *Ascaris suum*.

MORRIS *et al.* (1984) encuentran parasitaciones del 53 % sobre casi un centenar de granjas analizadas en Oklahoma (EEUU). REDDINGTON *et al.* (1986) en Georgia entre los años 1977 y 1981 detectan una parasitación por *A. suum* en torno al 31'7 %. El 78'6 % de ellos presentaban en su intestino delgado de 1 a 20 vermes, siendo la media de 1 a 3 vermes por animal.

En cuanto a las prevalencias obtenidas sobre la base de los hígados decomisados, en Alemania, tras el estudio de más de 10 millones de cerdos sacrificados durante un período de dos años, se obtuvo una prevalencia que oscilaba entre el 1'7 y el 11'2 % (HOY, 1994, citado por ORTEGA, 1998). En Bélgica, el 35'7 % de los hígados inspeccionados muestran una o más manchas de leche (VERCRUYSSSE *et al.*, 1997). CHAMBERS (1987) encuentra en mataderos de Zimbabwe un 24.2 % y un 7.9 % de animales positivos en los años 1984-85 y 1985-86 respectivamente, realizando el diagnóstico en base a los hígados decomisados por lesiones de *Ascaris suum*. En Canadá el porcentaje de hígados con lesiones compatibles con ascariosis es del 44-50 % (WAGNER y POLLEY, 1997).

Finalmente, nos parece interesante citar, aunque dándole el valor que realmente tiene, los resultados obtenidos por RODAS (1999) en las matanzas domiciliarias de cerdos en la Zona de Salud de Montijo (Badajoz) durante el período 91-97. Cada campaña se circunscribe al período comprendido entre noviembre y febrero. Este autor divide las lesiones encontradas en varios grupos, uno de los cuales lo denomina "lesiones parasitarias: nódulos y granulomas inespecíficos", grupo en el cual pensamos que entrarían las lesiones provocadas por los *Ascaris*. En el total de las campañas se decomisaron 461'4 kg de hígado, de los cuales 281 kg fueron decomisados por

DISCUSIÓN

"lesiones parasitarias". Únicamente hace mención expresa a la presencia de *Ascaris* en las campañas 93-94 (9 cerdos en 9 matanzas) y 94-95 (5 cerdos en 5 matanzas). El número de cerdos sacrificados en total fue de 7.317 en 4.201 matanzas, lo que equivale a 1'74 cerdos por matanza.

Por tanto, con los resultados a la vista, es muy difícil comparar con los datos existentes de otros autores, sencillamente porque el método utilizado no ha sido el mismo, o bien porque se trataba de explotaciones con sistemas intensivos. En este sentido, por métodos coprológicos, nuestros resultados están muy lejos del 2 % que describe LEE en Malasia, o del 70 % de KENNEDY en USA.

En Italia en general, parece ser que los índices encontrados son más bajos que los nuestros, rondando el 5 % cuando hablamos de animales infestados, y del 35 % cuando se trata de explotaciones. Sin embargo, nuestros resultados son más bajos que los obtenidos en Suecia (50 %), haciendo la salvedad de que dicho estudio se hizo sobre animales en edad de cebo.

Los resultados obtenidos buscando la presencia del parásito, en general suelen ser bajos para todos los autores, excepción hecha de BENNET y COPEMAN que encuentran un 50 % en animales de cebo.

Respecto a hígados decomisados, los niveles más bajos los presenta Alemania entre un 1 y un 10 %. Los más altos son de Canadá con un 44-50 %, existiendo situaciones intermedias como la de Bélgica (35'7 %) y Zimbabwe (8-24 %). No damos mucho valor a las consideraciones de RODAS en Montijo, si bien, siempre deberán tenerse en cuenta.

Parece estar claro, que las prevalencias son mayores cuando el método utilizado es el método coprológico, que cuando se investigan parásitos adultos y sobre todo lesiones hepáticas. Es evidente también que las cifras más altas se encuentran en EEUU como consecuencia del predominio de las explotaciones intensivas.

En cuanto a referencias de estudios realizados en España, SIMÓN VICENTE (1979) afirma que *Ascaris suum*, junto a los acantocéfalos, son los parásitos de mayor interés en los suinos de la dehesa, ya que al pastar y hozar

libremente, tienen capacidad de contaminarse fácilmente por aquellos. Realmente eso es así, en producciones semiextensivas, pero no, cuando los animales tienen gran cantidad de terreno en condiciones puramente extensivas, donde las reinfestaciones se ven limitadas por el espacio y condiciones climáticas.

Sí estamos de acuerdo con el Índice Catálogo de Zooparásitos Ibéricos de CORDERO DEL CAMPILLO *et al.* (1994) donde se relata que *Ascaris suum* tiene una distribución generalizada por toda la península y provincias insulares, tanto en cerdo como en jabalí.

En Extremadura, HABELA *et al.* (1987) hacen una revisión sobre la influencia de la dehesa en la patología parasitaria del cerdo ibérico, a la vez que aportan datos de la incidencia de parasitación por *Ascaris suum*, cifrándola en un 28'4 % de los diagnósticos realizados, prevalencia un poco superior a la encontrada por nosotros, si bien nuestro estudio se basa en el diagnóstico serológico de muestras de suero sanguíneo obtenidas al azar, mientras que ellos diagnostican a partir de animales o muestras de heces que se remiten a la Facultad, evidentemente de cualquier raza y cualquier sistema de explotación. Estamos de acuerdo con las afirmaciones de RUEDA y MONTES (1990), que tras realizar un estudio parasitológico en explotaciones extensivas en la provincia de Badajoz, observan que los parásitos más frecuentes son *A. suum*, *T. suis* y *Metastrongylus spp.*, presentando particular repercusión en los animales mantenidos en semi-estabulación o estabulación completa.

PÉREZ-MARTÍN (1996), en su estudio realizado en porcinos del sur de la provincia de Badajoz, durante 3 años, denuncia unas cuotas de parasitación entre el 34 y el 45 %, dependiendo de los años, con una media del 37'04 %, valor ligeramente superior al nuestro en el caso del límite más exigente, pero muy parecido al que obtenemos en la provincia de Badajoz (31'5 %) cuando el límite diagnóstico es del 20 %.

En su estudio sobre porcinos ibéricos del sur de Badajoz y sur de Cáceres, GARCÍA VALLEJO (1999) sobre 689 animales, encuentra que *A. suum* es el parásito más prevalente con niveles del 28'7 %, seguido de *Metastrongylus spp.* (24 %) y *Oesophagostomum dentatum* (11'8%). De nuevo

DISCUSIÓN

estos valores se acercan considerablemente a los obtenidos por nosotros en Badajoz y algo superior a los de Cáceres (20'5 %).

No queremos dejar a un lado, la posibilidad de distorsión de resultados que existe, como consecuencia de las posibles reacciones cruzadas con otros parásitos. Estas reacciones cruzadas entre *A. suum* y otros helmintos, ha sido causa de muchos problemas en test serológicos, tanto en medicina humana, como en medicina veterinaria. Son muchos los autores (KENNEDY *et al.*, 1989, GRELCK *et al.*, 1981, HERSKOVIC y ASTORGA, 1985) que comprueban las relaciones antigénicas entre *A. lumbricoides*, *A. suum* y *T. canis*. Evidentemente, esta reacción cruzada no representa ningún problema para nuestro estudio, como tampoco lo es la reacción cruzada existente entre *A. lumbricoides* y *Necator americanus* demostrada por PRICHARD *et al.* en 1991.

Sin embargo, sí puede ser un problema para nosotros, la reacción cruzada existente entre *Ascaris suum* y *Oesophagostomum dentatum*, demostrada por LIND *et al.* (1993) haciendo uso de un ELISA indirecto con antígeno ES-L2/L3. Estos autores señalan que puede haber reacciones cruzadas con *Oesophagostomum dentatum* en piaras con fuerte parasitación por el mismo. A este respecto, ROEPSTORFF y NANSEN (1994) indican que *Oesophagostomum spp.* es mucho más sensible que *Ascaris suum* a los factores ambientales y por tanto raramente tiene mayor prevalencia que *A. suum.*, apreciación con la que personalmente no estamos de acuerdo, ya que *Oesophagostomum spp.* es un parásito muy prevalente en Extremadura. No obstante, haciendo caso de las apreciaciones de BOGH *et al.* (1994), existe una fuerte reacción cruzada entre *A. suum* y *Oesophagostomum spp.* cuando se utiliza como antígeno fluido corporal de adultos, hecho que se minimiza utilizando antígeno ES-L2/L3, como ha sido en el caso de nuestro estudio.

En cuanto a otros helmintos importantes en esta región como puede ser *Trichuris suis*, no existe ningún problema, ya que en 1995, FURUYA *et al.* demuestran que no existe reacción cruzada entre *Ascaris suum* y *Trichuris suis*.

YOSHIHARA *et al.* (1993), usando fluido pseudocelómico de hembras adultas de *A. suum* como antígeno, estandarizan un test ELISA, que muestra alguna reacción cruzada con sueros positivos a *Metastrongylus sp.* Sin embargo, y debido a la baja prevalencia de este nematodo en nuestra región,

así como el hecho de haber utilizado antígeno ES larvario, la posibilidad de reacción cruzada se ve minimizada.

En cerdos criados en sistemas extensivos e intensivos del norte de Europa, con especial referencia al ejemplo de Dinamarca, está perfectamente establecido que el desarrollo, supervivencia y transmisión de los helmintos parásitos del cerdo en el medio ambiente depende de una serie de factores bióticos y abióticos, incluyendo la presencia de hospedadores intermediarios que son esenciales para algunas especies parásitas (ROEPSTORFF y NANSEN, 1994). Evidentemente, *Ascaris suum* no necesita ningún hospedador intermediario para completar su ciclo, pero no cabe duda que en las explotaciones extremeñas objeto de este estudio, insectos, aves silvestres, roedores, etc, complican el proceso ya que su presencia ayuda a difundir la enfermedad, dificultando el control de la misma (determinados insectos como los escarabajos y anélidos como la lombriz de tierra, pueden albergar fases infestantes según EUZEBY, 1963 y KRAGLUND *et al.*, 1998).

Creemos que el porcentaje medio de seroprevalencia (17'6 - 27'3 %) obtenido por nosotros, es un porcentaje lo suficientemente alto como para que la cabaña porcina ibérica extremeña desarrolle una inmunidad protectora, que en cierta manera limita la presencia del parásito.

Finalmente, por si el factor alimentación hubiera influido en nuestros resultados, de todos es sabido que el cerdo ibérico con una alimentación basada en hierbas, pastos y frutos de la dehesa, cubre de manera sobrada sus necesidades vitamínicas y minerales. Se sabe que dietas carentes en vitamina A, B o proteínas, son factores favorecedores de la ascariosis porcina, así como los estados de desequilibrio entre el calcio y el fósforo (EUZEBY, 1963). De la misma manera, el aporte de carbohidratos y proteínas está asegurado con este tipo de alimentación, si bien en años de escasez alimenticia, son suplementados con piensos compuestos. Aunque ciertos autores señalan aumentos de infestación por *Ascaris suum* en dietas pobres en carbohidratos, PETKEVICIUS *et al.* (1997) ensayan con 5 dietas diferentes variando el tipo y cantidad de carbohidratos, comprobando que respecto a *Ascaris suum* no se observan diferencias apreciables en cuanto al establecimiento y localización de los parásitos.

5.5.2. - Por Comarcas.

En cuanto a censos porcinos, por comarcas e incluyendo todas las razas porcinas, destaca sobre manera, la comarca de Jerez de los Caballeros, existiendo un número importante de comarcas en Badajoz, como son Alburquerque, Mérida, Badajoz, Olivenza, Llerena y Azuaga, con gran censo de animales. No es el caso de la provincia de Cáceres, donde existe menor número de animales y, así podemos hablar de censos relativamente importantes en Cáceres, Valencia de Alcántara, Navalmoral y Plasencia.

La distribución de la superficie de encinar en Extremadura presenta tres grandes "manchas". Una de ellas abarca gran parte de las comarcas de Valencia de Alcántara, Alburquerque, Badajoz y Mérida; otra, las comarcas de Olivenza, Jerez de los Caballeros y Llerena, y una última a Trujillo y Navalmoral de la Mata. A partir de ahí, Extremadura está salpicada por encinas en la totalidad de su territorio.

Nuestros resultados han revelado valores bajos (con niveles medios inferiores al control negativo) de reactividad en las comarcas de Cáceres, Azuaga, Trujillo y sobre todo Hervás. Si bien, en las comarcas cacereñas, en general, se caracterizan por ser comarcas con escasa trascendencia en la cría y explotación de esta raza, en el caso de la comarca de Azuaga, se trata de una comarca donde la producción del cerdo ibérico es muy importante, y junto a Monesterio perteneciente a la comarca de Llerena, es una de las zonas de mayor producción de lechones, que posteriormente se venden para otras localizaciones como puede ser el Valle de los Pedroches en Córdoba.

Por el contrario, sí han alcanzado valores altos de reactividad los sueros provenientes de las comarcas de Jerez de los Caballeros, Alburquerque, Mérida y Coria, sobre todo, la comarca de Jerez de los Caballeros, cuna del cerdo ibérico en Extremadura.

En el caso del recríó, todas las comarcas de la provincia de Cáceres han mostrado una reactividad marcadamente diferente ($p < 0.05$) a la de los cerdos de esa misma edad en el resto de comarcas de la provincia de Badajoz. Eso demuestra que los manejos varían de una provincia a otra o más bien, que el incremento del censo porcino en las explotaciones cacereñas, no es tan grande como el de la provincia de Badajoz.

Todas las reactividades de las comarcas cacereñas han sido similares en esta edad, excepción hecha de la de Valencia de Alcántara, comarca limítrofe con la provincia de Badajoz y con una explotación importante del cerdo ibérico debido a su orografía adhesionada con gran cantidad de arbolado del género *Quercus*.

Finalmente en esta edad de animales más jóvenes, es Jerez de los Caballeros la comarca que de nuevo muestra mayores diferencias estadísticamente significativas con el resto de comarcas.

En los animales adultos, tanto los de cebo como reproductores, existen diferencias significativas entre todas las comarcas y sólo, la de Cáceres en el cebo y la de Alburquerque en reproductores acusan mayores diferencias a lo cual no encontramos explicaciones lógicas y tal vez sean debidas a factores propios de explotación.

A modo de resumen, podemos decir que las máximas seroprevalencias las hemos encontrado para cualquier edad chequeada, en la comarca de Jerez de los Caballeros. La razón de estos elevados niveles para nosotros radica en la densidad de animales por explotación, cada vez más acusada por el auge experimentado del sector. Solo Olivenza le acompaña en los mayores índices de seropositividad en la edad de recría, posiblemente por haberse chequeado animales en condiciones de simiextensividad, explotaciones por otro lado, proclives a la infestación por *Ascaris suum*. Con la misma contundencia, se ha manifestado la comarca de Alburquerque, que con un 23'8 % de animales claramente positivos, muestra gran tradición en la cría del porcino extremeño, con importantes cifras de densidad de población.

No damos excesivo valor a los resultados de Coria donde el mayor número de explotaciones correspondía a animales de cebo.

Corroboran nuestros resultados por comarcas, los obtenidos por PÉREZ-MARTÍN en 1996, quien en su estudio realizado en porcinos del sur de la provincia de Badajoz (dentro de la comarca de Jerez de los Caballeros), durante 3 años, denuncia unas cuotas de parasitación entre el 34 y el 45 %, dependiendo de los años, con una media del 37,04 %.

Sobre porcinos ibéricos del sur de Badajoz y sur de Cáceres, GARCÍA VALLEJO (1999), encuentra que *A. suum* es el parásito más prevalente con niveles del 28'7 %. Estos resultados son similares a los nuestros, si bien en el caso del sur de Cáceres han sido más bajos.

5.5.3. - Por Oficinas Veterinaria de Zona.

En cuanto a la distribución por Oficinas Veterinarias de Zona, los resultados no varían con exceso a los obtenidos por comarcas. Sigue siendo la OVZ de Jerez de los Caballeros la que mayores reactividades e índices de seroprevalencia (24'5 %) presenta. En esta ocasión, dicha OVZ es seguida en cuanto a índices más altos, por la OVZ de Badajoz (20'3 %) que no olvidemos, engloba a las comarcas de Alburquerque y Olivenza, dos comarcas que mostraron importantes índices de seropositividad.

Las causas por las que estas OVZs muestran mayores índices de seroprevalencia son las mismas que argumentábamos en el caso de las comarcas.

5.5.4. - Por términos Municipales.

Nos gustaría aclarar que, aunque efectivamente pueda existir algún término donde la ascariosis porcina sea un problema, no queremos catalogar los municipios como padecedores o no de la enfermedad, dependiendo de que nuestros resultados hayan reflejado una alta o baja prevalencia, respectivamente. Esto es debido a que, en primer lugar, no somos conocedores de todos los términos que componen esta región, y en segundo lugar, como ya hemos mencionado en varias ocasiones, el factor edad influye de una manera importante.

Por eso siempre creímos más interesante mostrar y comentar nuestros resultados desde el punto de vista de su agrupación por comarcas y mejor aún, por provincias.

Solamente quisiéramos dejar constancia aquí de la escasa reactividad que han tenido la mayoría de los términos de la provincia de Cáceres, lo cual nos está indicando claramente la escasa incidencia de *Ascaris suum* en esta provincia, debido posiblemente a que la explotación del cerdo ibérico aquí es mucho más limitada que la de Badajoz, donde existe mayor densidad de población.

Respecto a referencias que existen sobre diagnósticos en términos de Extremadura, volvemos a citar el trabajo de GARCÍA-VALLEJO *et al.* (1999) quienes estudian porcinos ibéricos y sus cruces, de ambos sexos, y procedentes de explotaciones ubicadas en los términos municipales de Higuera la Real y sus alrededores. Ellos encuentran como nematodo más prevalente en estos términos a *Ascaris suum*, términos encuadrados en la comarca de Jerez de los Caballeros, donde nosotros hemos acusado prevalencias muy altas.

Sólo se pueden establecer ciertas comparaciones con los resultados obtenidos en Extremadura por HABELA *et al.* (1987), los cuales hacen una revisión sobre la influencia de la dehesa en la patología parasitaria del cerdo ibérico, a la vez que aportan datos de la incidencia de parasitación por *Ascaris suum* en Extremadura, cifrándola en un 28,4 % de los diagnósticos realizados. Esos diagnósticos tuvieron lugar en los términos de Brozas, Trujillos, Cáceres, Logrosán, Navalmoral de la Mata, Olivenza, Badajoz, Alburquerque, Segura de León, Alconchel y Mérida, términos en su mayoría coincidentes con nuestros hallazgos.

Finalmente, nos parece interesante citar los resultados obtenidos por RODAS (1999) en las matanzas domiciliarias de cerdos en la Zona de Salud de Montijo (Badajoz) durante el período 91-97, con la salvedad hecha de que se trata de animales sacrificados en matanzas domiciliarias, siendo por tanto animales en explotaciones familiares con escasas condiciones de higiene y alimentados en muchas ocasiones con restos de comidas humanas, aún estando prohibido por Ley. En la mayoría de las ocasiones, este autor no suele concretar y realiza la denominación de "lesiones parasitarias: nódulos y granulomas inespecíficos", grupo en el cual pensamos que entrarían las lesiones provocadas por los *Ascaris*. Únicamente hace mención expresa a la presencia de *Ascaris* en las campañas 93-94 (9 cerdos en 9 matanzas) y 94-95 (5 cerdos en 5 matanzas), por lo que pensamos que, aún estando presente

DISCUSIÓN

la ascariosis porcina, no es un problema acuciante. En el término concreto de Montijo, hemos estudiado 4 explotaciones con animales en edad de recría, con resultado negativo en las 68 muestras analizadas.



CONCLUSIONES

1. La técnica ELISA empleada en este trabajo se ha revelado como una técnica muy válida para la realización de amplias encuestas seroepidemiológicas y certificar explotaciones libres del parásito ya que, ante un resultado negativo se puede concluir de manera taxativa que no hay presencia del parásito en la explotación.
2. Siendo esta una enfermedad en la que interesa el diagnóstico del colectivo y no del individuo, es conveniente usar los límites diagnósticos con puntos de corte altos, tendentes a la consecución de una mayor especificidad en detrimento del grado de sensibilidad, en zonas donde existe la enfermedad con prevelancias medias o bajas. Por el contrario, debería tomarse el límite diagnóstico con punto de corte bajo (test muy sensible) para detectar prácticamente cualquier respuesta serológica, en colectivos presuntamente libres de *Ascaris*.
3. La seroprevalencia del 17'6 % obtenida para el conjunto de la región, aplicando el límite diagnóstico más exigente, nos indica que el cerdo ibérico criado en extensividad presenta cierto endemismo respecto a *Ascaris suum*, no teniendo que ver con la situación parasitaria, mucho menos favorable para este parásito, en que se encuentran los cerdos criados en sistemas intensivos o semiintensivos. Creemos que la cría del cerdo ibérico en verdaderas condiciones de extensividad, limita enormemente la acción del parásito debido a la intervención de la propia naturaleza y a la menor posibilidad de acceder a los elementos de diseminación del mismo. Este porcentaje medio de seroprevalencia es lo suficientemente alto como para que la cabaña porcina ibérica extremeña desarrolle una inmunidad protectora que, en cierta manera limita su presencia.
4. Tomando también el límite diagnóstico más exigente, más del 50 % de las explotaciones extensivas del cerdo ibérico de Extremadura han presentado al menos un animal seropositivo, es decir, no pueden declararse libre del parásito.

CONCLUSIONES

5. La ascariosis porcina en Extremadura, muestra una clara diferencia de presentación entre provincias. Así, la provincia de Cáceres, en conjunto, muestra una seropositividad sensiblemente más baja que la provincia de Badajoz. Ello podría deberse a la menor densidad de cerdo ibérico extensivo en la provincia de Cáceres en relación con la de Badajoz. Es por tanto una provincia donde, tal vez por menor tradición, aun no se ha dado el fenómeno de masificación y hacinamiento que se está produciendo en la provincia de Badajoz.
6. En relación con la anterior conclusión, las Comarcas Agrarias con mayor densidad de ganado porcino explotados en sistemas de producción extensivos, son las comarcas que han mostrado los índices más elevados de seroprevalencia, precisamente porque el ciclo evolutivo directo de este parásito se ve favorecido cuando el contacto entre animales es íntimo. Así, comarcas como Jerez de los Caballeros con un 27'6 % de animales positivos y Alburquerque con un 23'8 %, han obtenido los índices más elevados, siendo dos comarcas con un gran número de animales de esta raza.
7. La mayoría de los términos municipales de la provincia de Cáceres muestran escasa reactividad en los sueros de los cerdos chequeados en los mismos. Este hecho nos lleva a concluir que en ellos el problema de la ascariosis no es por el momento un problema acuciante.
8. En las explotaciones extensivas del cerdo ibérico en Extremadura se observa la influencia de las altas temperaturas como elemento reductor del número de huevos en el medio ambiente, aumentando el contagio en épocas de frío como consecuencia del mayor hacinamiento animal para combatirlo.
9. Los animales de mayor edad, es decir, reproductores y animales en fase de cebo, son los que muestran los índices de seroprevalencias más elevados. Eso es debido por un lado al tiempo de contacto con el parásito y en segundo lugar, por tratarse de cerdos cuya capacidad de movimiento está más limitada, siendo su radio de acción más pequeño, tendiendo a estar agrupados, lo que favorece el contacto con sus propias heces, y por tanto el ciclo biológico del parásito.



RESUMEN



El cerdo ibérico es un animal perfectamente adaptado a las difíciles condiciones medioambientales de la dehesa. Su rusticidad, comportamiento en el pastoreo, potencial adipogénico, metabolismo anabólico y desarrollo tardío, le diferencia con características propias de otras razas. Sin embargo, no se puede olvidar que el protagonismo de los procesos parasitarios es, en general, mucho más acusado en las explotaciones de carácter extensivo o semiextensivo por la mayor dificultad de controlar algunas de las fases parasitarias.

En este trabajo y haciendo uso de la técnica ELISA, se ha realizado un estudio seroepidemiológico sobre la infestación natural por *Ascaris suum* del cerdo ibérico explotado en extensividad en la región de Extremadura. Para ello, se han analizado un total de 5.060 sueros sanguíneos de porcino ibérico, de los cuales, 1.988 pertenecieron a la edad de recría, 2.614 a animales en cebo y 458 a reproductores.

Se han establecido dos posibilidades de **límites diagnósticos**, en un caso, en base a las Densidades Ópticas (D.O.) considerando positivos aquellos sueros que superaron el valor medio del control negativo más tres veces la desviación estándar ($\bar{X} + 3DS$), y en otro, el basado en el %EIA (porcentaje de reactividad de cada suero en referencia a los controles negativos y positivos usados en cada placa). En este caso, se establecieron dos puntos de corte, en el 20 y 40 %, considerando como negativos aquellos sueros que obtienen valores por debajo del 20 %, y como positivos, los que obtienen valores por encima del 40 %. El grupo de sueros con reactividades entre el 20 y el 40 % se catalogó como dudosos o de positividad débil.

En el primer caso, la media de la D.O. del suero control negativo fue de 0'2. La desviación estándar (DS) de la media del suero control negativo se situó en un valor de 0'1. Respecto al valor de punto de corte (cut-off), correspondiente a la $\bar{X} + 3DS$ fue de 0'3. En cuanto a la D.O. del suero control positivo, ésta alcanzó un valor medio de 0'7 con una DS de 0'2. Con el punto de corte basado en la D.O. corregida, equivalente a sueros con una reactividad superior al 24 %, un total de 1.270 superaron el mismo.

RESUMEN

Respecto al %EIA, para el total de las muestras analizadas, la media de reactividad fue de 8'8 con una DS de 38'9. En este caso, el número de sueros con valores inferiores al 20 %, es decir, valores claramente negativos, fue de 3.678, con un valor medio de 10'9 y una DS de 16'6. Aquellos sueros con reactividades entre el 20 y el 40 %, fueron un total de 491, con una reactividad media de 29'5 y una DS de 5'7. Los sueros más reactivos, con porcentajes superiores al 40 %, es decir, sueros correspondientes a animales claramente positivos, fueron un total de 891, con una reactividad media de 75'8 y una DS de 30'3.

Por edades, sobre el total de muestras (N = 5.060) la media del % EIA detectada para los animales de recría fue sensiblemente inferior a las obtenidas para los de cebo y reproductores, alcanzando valores medios negativos (- 4'3) que nos indican la escasa reactividad de los sueros de los animales más jóvenes. En cuanto al % EIA de los animales de cebo y reproductores, se ha situado en 16'9 y 19'5 respectivamente. Las diferencias entre el grupo de los animales de recría con el resto de edades son muy significativas ($p < 0'0001$). Sin embargo, por la misma razón, no existen diferencias significativas entre los grupos de cebo y reproductores ($p = 0'17$). Respecto a la seroprevalencia obtenida, los índices más altos los poseen los animales reproductores y en edad de cebo, y dependiendo del límite diagnóstico elegido, los resultados por edades para la región de Extremadura se cifran entre un 17'6 y un 27'3 %. La cifra más baja de las registradas corresponde al recría (7'4-14'3), seguida muy de lejos, por los datos procedentes del cebo (23'8-35'0) y reproductores (26'4-40'2).

Según la temporalidad del muestreo, la mayor reactividad de los sueros se obtuvo en los meses de octubre, noviembre, diciembre y enero. Los % EIA más bajos correspondieron al mes de junio, alcanzando también reactividades mínimas (muy próximas al control negativo) los meses de febrero y marzo. Considerando la totalidad de las muestras analizadas, existen diferencias significativas ($p < 0'05$) entre, prácticamente, todos los meses. Por tanto, en Extremadura, la seropositividad máxima alcanzada se localiza en el mes de enero, con un 34'3 %, con diferencias estadísticamente muy significativas ($p = 0'0001$) con respecto a la mayoría del resto de meses. Es evidente por tanto, que existe una importante relación entre la ascariosis porcina y la climatología. En este sentido, detectamos que la reactividad de los sueros está muy correlacionada sobre todo con la edad, censo y densidad

de población. Existe también una correlación importante ($r = 0'15$) con los datos referidos a humedad. Según la edad, ciertas correlaciones cambian de sentido. Considerando sólo los animales de recría, la reactividad de los mismos aparece estrechamente relacionada con el censo y la densidad de animales ($r=0'34$), mientras no hay correlación con la humedad o pluviosidad. Sin embargo, en el caso del cebo está más relacionada con la humedad, aunque el censo muestra una correlación alta. En reproductores, la correlación con la humedad parece más discreta, pero esto puede deberse a una correlación no lineal, ya que las reactividades más altas se encuadran con valores de humedad relativos medios.

Por provincias, respecto a la reactividad media de los sueros, el valor obtenido en la provincia de Badajoz (13'7) es claramente superior al obtenido en la provincia de Cáceres, cuya media del % EIA para el total de sueros se mantiene en niveles muy cercanos al control negativo (1'0).

Por comarcas, en cuanto a reactividad de los sueros, han obtenido valores medios por debajo del control negativo, las comarcas de Cáceres, Azuaga, Trujillo y sobre todo Hervás. Han sido muy bajos también los valores medios obtenidos para las comarcas de Plasencia, Almendralejo y Badajoz. Los niveles más altos los han alcanzado las comarcas de Jerez de los Caballeros (23'9 %), Albuquerque (14'1 %), Mérida (13'4 %) y Coria (12'2 %). En cuanto a los índices de seroprevalencia, para cualquiera de los límites diagnósticos elegidos, se han mostrado reactivos un elevado número de sueros en las comarcas de Jerez de los Caballeros y Albuquerque, comarcas que por otro lado, muestran una gran tradición en la cría del cerdo ibérico con un censo importante de los mismos. También han mostrado elevados índices de seroprevalencia las comarcas de Coria y Olivenza, comarcas con menor censo y tradición en la cría del ibérico. El resto de comarcas en general, han mostrado bajos índices de seropositividad, todos ellos por debajo del 13,3 % de Mérida.

Por términos municipales, en cuanto a reactividades individuales en cada término, se puede observar que los términos de Cheles y Salvaleón, en la provincia de Badajoz y, Pedroso de Acín, Peraleda de San Román y Robledillo de Trujillo, en la provincia de Cáceres, han presentado reactividades medias muy altas, todas por encima del 50 %. Existen también numerosos términos con reactividades negativas, la mayoría de los cuales pertenecen a la provincia de Cáceres.

Finalmente, **por explotaciones**, considerando positivas, aquellas en las que al menos se ha diagnosticado un animal con reactividad superior al 40 %, más de la mitad de las mismas, se han mostrado positivas, lo que se traduce en una seroprevalencia por explotaciones del 55'1 % para el conjunto de la región. En la provincia de Badajoz se ha situado ligeramente (55 %) por debajo de los valores alcanzados por la provincia de Cáceres (55'4 %). En este caso por tanto, no han existido las diferencias tan acusables que se daban entre provincias cuando se estudiaban seroprevalencias individuales. Con límites de sensibilidad muy alta (>20 %), los valores de seroprevalencia se sitúan próximos al 70 %, cifra muy preocupante para la región extremeña.



SUMMARY



The Iberian pig is an animal perfectly adapted to the hard environmental conditions of the "Dehesa". His rusticity, breeding conditions, adipogenic potential, anabolic metabolism and slow development makes him different from other races. Although, we can't forget that parasitic processes are the main problem in outdoor systems and sometimes are difficult to control.

In the present work, and using the ELISA technique, we carried out a seroepidemiological study concerning *Ascaris suum* natural infection in Iberian pigs raising in outdoor system of Extremadura region. For this propose, 5.060 iberian swine blood sera were analysed (1.988 belonging to the after weaning age, 2.614 from animals on food and 458 from breeders).

We have stabilised two diagnostic limits possibilities: one based on optical densities (O.D.) considering positive those sera with an average value higher than negative control plus three times the standard deviation ($\bar{X} + 3SD$), and other based on the EIA % (reactivity percentage of each sera related to negative and positive controls used in each plate). In this case, two cut-off values were stabilised, 20 and 40%, considering negative those sera with values under 20% and as positive those who have values up to 40%. Sera group with reactivity between 20 and 40% were categorized as doubtful or weakly positive.

In the first case, average O.D. of negative control serum was 0.2. The standard deviation of average negative control serum gives a value of 0.1. Concerning the cutt-off value belonging to $X + 3SD$ was 0.3 and the O.D of positive control serum reached and average value of 0.7 with a SD of 0.2. Using a cutt-off value based on the corrected O.D, equivalent to sera with reactivity up to 24%, a total of 1.270 reached the cutt.

Regarding the EIA %, average reactivity for all analysed samples was 8.8, with an standard deviation of 38.9. In this case, the number of sera with values under 20%, it means with clearly negative values, was 3.678 samples, with an average value of 10.9 and 16.6 SD. Those sera with reactivity between 20 and 40%, were a total of 491, with an average reactivity of 29.5 and 5.7 SD. The most reactive sera, with percentage up to 40%, it means,

SUMMARY

sera belonging to animals clearly positive, were a total of 891, with an medium reactivity of 75.8 and 30.3 SD.

By ages, over a total sample (N=5.060) the average of EIA % detected for after weaning animals was slightly lower than gotten for animals on food and breeding animals, reaching negative average values (-4.3) that showed the weak reactivity of sera from youngest animals. The EIA % of cebo and breeders animals, was 16.9 and 19.5 respectively. The differences between the group or after weaning animals with the rest of ages are very significantes ($p < 0.0001$). Although, for the same reason, there are not significant differences between the cebo and breeders groups ($p = 0.17$). Concerning seroprevalence, the highest index are those of breeders and cebo aged animals, and depending of chosen diagnostic limit, the results by ages in Extremadura region are 17.6 and 27.3%. The lowest number belongs to after weaning animals (7.4-14.3), continued far away from animals on food (23.8-35.0) and breeders (26.4-40.2).

Concerning sampling temporality, the highest reactivity of sera were in October, November, December and January. The lowest EIA % were those of June, getting also minimal reactivity (very close to negative control) in February and March. Considering all analysed samples, there are significant differences ($p < 0.05$) between, practically, all months. Thus, in Extremadura, the maximum seropositivity is in January, 34.3%, with very significantes statistical differences ($p = 0.0001$) relating the rest of months. Evidently, there is an important relation between the swine ascariosis and climatologic. In this sense, we detect that sera reactivity is very related basically with age, census, and population density. There is also an important correlation ($r = 0.15$) with the data referring humidity. By ages some correlations change of sense. Considering only after weaning animals, the reactivity are closely related with the census and the animal density ($r = 0.34$), while there is not correlation with humidity or rain. Although, in the case of animals on food is more related with humidity but the census showed a high correlation. In breeders, correlation with humidity seems more discrete, but this can be due to no lineal correlation, because highest reactivity are related with intermedium values of relative humidity.

By **provinces**, regarding average reactivity of sera, the value gotten in Badajoz (13.7) is clearly upper than in Cáceres, which EIA % average for the amount of sera keeps in levels very close to negative control (1.0).

According **districts**, sera reactivity have gotten average values under negative control the districts of Cáceres, Azuaga, Trujillo and basically Hervás. Have been also very low the average values gotten in Plasencia, Almendralejo and Badajoz districts. The highest levels were in Jerez de los Caballeros (23.9%), Alburquerque (14.1%), Mérida (13.4%) y Coria (12.2%). Concerning seroprevalence index, for anyone of diagnosis limits chosen, a high number of sera showed very reactive in the district of Jerez de los Caballeros and Alburquerque, both with ancient tradition in Iberian pig breed and a very important census. Also Coria and Olivenza, with less census than the others, showed a high seroprevalence index. In general, the rest of districts have showed low seropositivity index, all of them under the 13.3% of Merida.

By **villages**, regarding the individual reactivity of each one, we can see that Cheles and Salvaleon, in Badajoz province, and Pedroso de Acín, Peralada de San Román and Robledillo de Trujillo, in Cáceres province, have showed average reactivity very high, all of them up to 50%. There also some many villages with negative reactivity the most part of them in Cáceres province.

Finally, according **farms** and considering positives those with at least an animal with reactivity upper to 40%, more than the half of them has been positives, which it means a seroprevalence of 55.1% for the whole region. In Badajoz province, the percentage was slightly lower (55%) than in Cáceres (55.4%). In this case, there are not differences as clear as those gotten between provinces when individual seroprevalence were studied. With very high sensibility limits (higher than 20%), the seroprevalence values are closely to 70%, data very important and worrying for the Extremadura region.



BIBLIOGRAFÍA

1. ABBAS, M.K. and CAIN, G.D. (1980). Iodination of surface components of the spheroidal and ameboid spermatozoa of *Ascaris suum* (Nematoda). Biol. Reprod., 22, 1007-1014.
2. AECERIBER. (1990). Censo español de reproductores del cerdo ibérico.
3. AGUILA, C.; CUELLAR, C. y GUILLEN, J.L. (1988). Anticuerpos monoclonales frente al antígeno excretor/secretor de *Toxocara canis*. Revista Ibérica de Parasitología, 48, 209-220.
4. AGUILA, C.; CUELLAR, C. and GUILLEN, J.L. (1988). Excretory/secretory antigen of *Toxocara canis*: recognition profiles of polyclonal and larvicidal monoclonal antibodies. Parasit. Immunol., 10, 237-241.
5. AGUILA, C.; CUELLAR, C.; FENOY, S. and GUILLEN, J.L. (1987). Comparative study of assays detecting circulating immune complexes and specific antibodies in patients infected with *Toxocara canis*. J. Helminthol., 61, 196-202.
6. AKAO, N. (1985). Immune response to excretory-secretory products of second stage larvae of *Toxocara canis*: Humoral immune response relating to larval trapping in the livers of reinfected mice. Jpn. J. Parasitol., 34, 293-300.
7. ALONSO DE VEGA, F.D. y RUIZ DE YBÁÑEZ CARNERO, M.R. (1999). Nematodosis gastrointestinales porcinas. Consejo Gral. Col. Veterinarios. Ciencia Veterinaria, 25, 124-130.
8. AMBLER, J.; DOE, J.E.; GEMMELL, D.K.; ROBERTS, J.A. and ORR, T.S. (1972). Biological techniques for studying the allergenic components of nematodes. I. Detection of allergenic components in *Ascaris suum* extracts. J. Immunol. Methods., 1, 317-328.
9. AMERASINGHE, P.H.; RAJAPAKSE, R. P. V. J.; LLOYD, S. and FERNANDO, S. T. (1992). Antigen-induced protection against infection with *Toxocara vitulorum* larvae in mice. Parasitol. Res., 78, 643-647.
10. ANDERSEN, S., JORGENSEN, R.J., NANSEN, P. and NIELSEN, K. (1973). Experimental *Ascaris suum* infection in piglets. Acta Path. Microbiol., Scand section B., 81, 650-656.

BIBLIOGRAFÍA

11. ANNEN, J.M.; ECKERT, J. and HESS, V. (1975). A simple method for the preparation of *T. canis* antigen for the indirect immunofluorescence test. *Acta Trop.*, 32, 38-45.
12. ARAMBULO, P.J. (1970). Micro Ouchterlony double immunodiffusion studies with *Ascaris lumbricoides* and *Ascaris suum* female body fluid and eggs extract. *J. Vet. Med.*, 8, 71-80.
13. ARAUJO, P. (1972). Cit. SOULBY, E.J.L. (1987). *Parasitología y Enfermedades parasitarias de los animales domésticos*. 7ª Edición. Ed. Interamericana.
14. ARCHER, G.; COULITS, N.; JINDRA, J. and ROBSON, J. (1985). Eosinophilia, mast cell hyperplasia and antibody production in rats following an intraperitoneal injection of ascaris cuticle including in-vitro studies of immune eosinophil granule lysis. *Pathology*, 17, 101-107.
15. BALLARINI, G. (1988). Parasitosis porcinas: de la terapéutica a la quimioprofilaxis. *Rev. Med. Vet.* 5, 551-556.
16. BARDÓN, M.R. (1992). *Contribución a la biología e inmunología de Toxocara canis*. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid.
17. BEAVER, P.C.; JUNG, R.C. y CUPP, E.W. (1986). *Parasitología clínica*. 2ª Ed. Salvat.
18. BENITO, J., MENAYA, C., VÁZQUEZ, C., GARCÍA, J. y FERRERA, J. (1997). *Explotación del cerdo ibérico: la montanera*. Hojas divulgadoras de la Consejería de Agricultura de la Junta de Extremadura.
19. BENKOVA, M.; BOROSKOVA, Z. and SOLTYS, J. (1991). Immunostimulative effects of some substances in pigs with experimental ascariasis. *Vet. Med.*, 36, 717-724.
20. BERMEJO, F. (1992). Cerdo ibérico: pasado, presente y futuro. *Mundo Ganadero*, 9, 33-43.
21. BERMEJO, F. (1995). Situación actual del porcino ibérico. *Mundo Ganadero*, 10, 60-63.
22. BERNARDO, T.M.; DOHOO, I.R. and DONALD, A. (1990a). Effect of Ascariasis and Respiratory Diseases on Growth Rates in Swine. *Can. J. Vet. Res.*, 54, 278-284.

23. BERNARDO, T.M.; DOHOO, I.R. and OGILVIE, T. (1990b). A critical assessment of abattoir surveillance as a screening test for swine Ascariasis. *Can. J. Vet. Res.*, 54, 274-277.
24. BERNARDO, T.M.; DOHOO, I. R.; DONALD.; OGILVIE, T. and CAWTHORN, R. (1990c). Ascariasis, respiratory diseases and production indices in selected Prince Edward Island swine herds. *Can. J. Vet. Res.*, 54, 267-273.
25. BERNARDO, T.M. and DOHOO, I.R. (1988). Swine ascariasis: impact on production and abattoir surveillance. *Acta Vet., Scand. suppl.*, 84, 265-267.
26. BHALLA, S.; CHOWDHURY, N. and JUYAL, P.D. (1992). Double immunodiffusion (Did) and larval precipitin (Lp) tests against adult and larval *Toxocara canis* antigen. *J. Vet. Parasitol.*, 6, 11-14.
27. BIEHL, L.G. (1984). Internal parasitism of feeder pigs in Southern Illinois. *Agri-Pract.*, 5, 20.
28. BINDSEIL, E. (1974). Observations on the relationship between *Ascaris suum* burdens in pigs and faecal egg counts. *Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. B.*, 82, 879-884.
29. BJORN, H.; ROEPSTORFF, A. and NANSEN, P. (1996). A possible influence of diet composition on the establishment of nematodes in the pig. *Vet. Parasitol.*, 63, 167-171.
30. BOCH, J. y SUPPERER, R. (1977). *Parasitología en Medicina Veterinaria*. 2ª Edición. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires. Argentina.
31. BOES, J. ; NANSEN, P. and STEPHENSON, L. (1997). False-Positive *Ascaris suum* egg counts in Pigs. *Int. J. Parasitol.*, 27, 833-838.
32. BOGH, H.O.; ERIKSEN, L.; LAWSON, L.G. and LIND, P. (1994). Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay and a histamine release test system for the detection of pigs naturally infected with *Ascaris suum*. *Prev. Vet. Med.*, 21, 201-214.
33. BORCHERT, A. (1975). *Parasitología Veterinaria*. Ed. Acribia. Zaragoza, España.

BIBLIOGRAFÍA

34. BOROSKOVA, Z. and BENKOVA, M. (1974). The evaluation of antigens from different developmental stages of *Ascaris suum*, Vet. Med., 19, 271-275.
35. BÜHLMANN, J.; WEIBEL, W. und HÄNI, H. (1983). Vergleichende untersuchungen über mortalität, morbidität und mastleistung in Konventionellen und dem schweinnegesundheitsdienst angeschlossenen mastbetrieben. II. Abgangs und krankheitsur-sanchen. Schweiz. Arch. Tierheilk., 125, 779-788.
36. CALDWELL, F.C. and CALDWELL, E.L. (1926). Are *Ascaris lumbricoides* and *Ascaris suum* identical ? J. Parasitol., 13, 141-145.
37. CAMARGO, E.; NAKAMURA, P.; VAZ, A. J.; SILVA, M. V.; CHIEFFI, P.P. and MELO, E.O. (1992). Standardization of dot-ELISA for the serological diagnosis of toxocarasis and comparison of the assay with ELISA. Rev. Inst. Med. trop. Sao Paulo, 34, 55-60.
38. CAMPOS, M.; GOMEZ, V.; MAÑAS, I.; LOZANO, J. y RODRIGUEZ, M. (1981). Investigación de comunidades antigénicas de extractos antigénicos de trematodes y nematodes con seroproteinas de especies hospedadoras y no hospedadoras. Revista Ibérica de Parasitología, 41, 83-92.
39. CARSTENSEN, L., VAART, M. and ROEPSTORFF, A. (2002). Helminth infections in Danish organic swine herds. Vet. Parasitol., 106, 253-264.
40. CHAMBERS, P.G. (1987). Carcase and offal condemnations at meat inspection in Zimbabwe. Zimbabwe Vet. J., 18, 11-18.
41. CHANDLER, A.C. y READ, C.P. (1965). Introducción a la Parasitología. Ed. Omega, S.A. Barcelona.
42. CHEN, W; PACK, R.J.; ALLEY, M.R.; CARR, D.H. and MANKTELOW, B.W. (1990). Airway hypersensitivity induced by *Ascaris suum* extract in New Zealand Romney sheep. New Zeal. Vet. J., 38, 57-61.
43. CONSEJERÍA DE AGRICULTURA Y MEDIO AMBIENTE. (1993). Secretaría General Técnica. Servicio de Registro de Explotaciones y Gestión Integrada de Ayudas. Junta de Extremadura.
44. CONSEJERÍA DE AGRICULTURA Y MEDIO AMBIENTE. (1996-98). Secretaría General Técnica. Memoria del Servicio de Sanidad Animal. Junta de Extremadura.

45. CORDERO DEL CAMPILLO, M. e HIDALGO ARGÜELLO, M.R. (2000). Ascariosis. En: (M. Cordero y F.A. Rojo, Eds.) Parasitología Veterinaria. MacGraw-Hill Interamericana. Madrid. España.
46. CORDERO DEL CAMPILLO, M. y cols. (1980). Índice-Catálogo de zooparásitos ibéricos. Ed. Sanidad y Seguridad Social, Madrid.
47. CORDERO DEL CAMPILLO, M.; CASTAÑÓN ORDÓÑEZ, L. y REGUERA, A. (1994). Índice-Catálogo de zooparásitos ibéricos. Ed. Secretariado de Publicaciones. Univ. León. España.
48. CORWIN, R.M. y BRAUER, M.A. (1980). Un programa eficaz de control parasitario para cerdos de engorde. Cong. Asoc. Int. Vet. Esp. Gan. Porc. Copenhague. Dinamarca. Resúmenes de Ponencias: 589-590. (DGPA-MAPA).
49. CORWIN, R.M.; DIMARCO, N.K.; McDPWELL, A.E. and PRATT, S.E. (1986).- Internal parasites. In: (A.D. Leman; B. Straw; R.D. Glock; W.L. Mengelin; R.H.C. Penny and E. Scholl Eds.). Diseases of Swine. Iowa State University Press. USA.
50. CRANDALL, R.B.; CRANDALL, C.A. and JONES, J.F. (1978). Analysis of immunosuppression during early acute infection of mice with *Ascaris suum*. Clin. Exp. Immunol., 33, 30-37.
51. CUÉLLAR, C.; FENOY, S. and GUILLEN, J.L. (1992). Cross-reactions of sera from *Toxocara canis* infected mice with *Toxascaris leonina* and *Ascaris suum* antigens. Int. J. Parasitol., 22, 301-307.
52. CUÉLLAR, C.; FENOY, S. and GUILLÉN, J.L. (1995). Cross-reactions of sera from *Toxascaris leonina* and *Ascaris suum* infected mice with *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina* and *Ascaris suum* antigens. Int. J. Parasitol., 25, 731-739.
53. CYPESS, R.H.; KAROL, M.H.; ZIDIAN, J.L. GLICKMAN, L.T. and GITLIN, D. (1977). Larva-specific antibodies in patients with visceral larva migrans. J. Infect. Dis., 135, 633-640.
54. D.O. DEHESA DE EXTREMADURA. (2002). Memoria anual de la Campaña 2001-2002.

BIBLIOGRAFÍA

55. DE DEKEN, R. (1984). A survey on the endoparasites of pigs en Belgium with some considerations on the utility of deworming fattening pigs. *Trop. Med. Prince Leopold Sec. Vet. Med., Belgium*, 155, 71-78.
56. DE JUANA SARDÓN, A. (1954). El cerdo de tipo ibérico en la provincia de Badajoz. Tesis Doctoral. Cons. Sup. Inv. Cient. Dep. Zootecnia. Córdoba. España.
57. DECRETO 158/1999, de 14 de septiembre, por el que se establece la regulación zootécnico-sanitaria de las explotaciones porcinas en la Comunidad Autónoma de Extremadura. DOE nº 116 de 2 de octubre de 1999.
58. DÍEGUEZ, E. (1992). Cría del cerdo ibérico. *Mundo Ganadero*, 9, 25-32.
59. DOUVRES, F.W. and URBAN, J.F. (1986). Development of *Ascaris suum* from in vivo-derived third-stage larvae to egg-laying adults in vitro. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.*, 53, 256-262.
60. DUBINSKY, P.; RYBOS, M. and TURCEKOVA, L. (1982). Electrophoretic characteristics of the proteins in growing oocytes of *Ascaris suum*. *Helminthology*, 19, 289-297.
61. ERIKSEN, L. (1980). Relación parásito-hospedador en la infestación por *Ascaris suum* en el cerdo. *Cong. Asoc. Int. Vet. Esp. Gan. Porc. Copenhagen. Dinamarca. Resúmenes de Ponencias: 577-578. (DGPA-MAPA)*.
62. ERIKSEN, L. (1990). *Ascaris suum*: Influence of egg density on in vitro development from embryonated egg to infective stage. *Acta Vet. Scand.*, 31, 489-491.
63. ERIKSEN, L., NANSEN, P., ROEPSTORFF, A., LIND, P. and NILSSON, O. (1992a). Response to repeated inoculations with *Ascaris suum* eggs in pigs during the fattening period. *Parasitol. Res.*, 78, 241-246.
64. ERIKSEN, L.; LIND, P.; NANSEN, P.; ROEPSTORFF, A. and URBAN, J. (1992b). Resistance to *Ascaris suum* in parasite naïve and naturally exposed growers, finishers and sows. *Vet. Parasitol.*, 41, 137-149.
65. ESCRIBANO, M. y PULIDO, F. (1998). La dehesa en Extremadura. Estructura económica y recursos naturales. *Sec. Gral. Técnica. Consej. Agricultura. Junta de Extremadura*.

66. ESPÁRRAGO, F., CABEZA DE VACA, F. y MOLINA, M.R. (1999). El sector del porcino ibérico. "La Agricultura y Ganadería extremeñas en 1998". Facultad de Ciencias Económicas y Empresariales. Universidad de Extremadura. Caja de Ahorros de Badajoz.
67. ESPÁRRAGO, F., CABEZA DE VACA, F., BRITO, M. y BURZACO, A. (1993). La Agricultura y Ganadería extremeñas en 1993. Facultad de Ciencias Económicas y Empresariales. Universidad de Extremadura. Caja de Ahorros de Badajoz.
68. ESTERRE, P. et MAITRE, M.J. (1985). Les infections parasitaires des monogastriques en Guadalupe. Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop., 38, 43-48.
69. EUZEBY, J. (1963). Les maladies vermineuses des animaux domestiques et leurs incidences sur la pathologie humaine. Tomo 1, Fascicules 2, Maladies dûes aux némathelminthes. Vigot Frères, Paris.
70. FAIRBAIRN, D. (1960). In Stauber L.A. Ed. Host influence on parasite physiology. Rutgers Univ. Press, New Brunswick, N.J., 50-64.
71. FAIRBAIRN, D. (1961). The "in vitro" hatching of *A. lumbricoides* eggs. Can. J. Zool., 39, 153-162
72. FENOY, S.; CUÉLLAR, C.; AGUILA, C. y GUILLEN, J.L. (1989). Posibles reacciones cruzadas del antígeno excretor/secretor de *T. canis* en E.L.I.S.A. con antígenos de otros ascáridos y proteína C-reactiva. Revista Ibérica de Parasitología, 49, 185-192.
73. FRONTERA, E. (1998). Obtención de antígenos de *Ascaris suum*. Tesis de Licenciatura. Cáceres. UEx.
74. FRONTERA, E. (2000). Repercusiones orgánicas de la infección experimental por *Ascaris suum* en el cerdo ibérico. Tesis Doctoral. Cáceres. UEx.
75. FRONTERA, E., SERRANO, F.J., SÁNCHEZ, J., MORA, J.A., PÉREZ MARTÍN, J.E. y REINA, D. (2000). Aplicación inmunodiagnóstica de la técnica ELISA en la ascariosis porcina. Anaporc, 205, 6-23.

BIBLIOGRAFÍA

76. FURUYA, T.; YANO, Y.; YOSHIHARU, S.; SAEKI, H. and ISHII, T. (1995). Diagnosis of hepatic milk spots in swine using enzyme-linked immunosorbent assay with adult female *Ascaris suum* antigen. J. Vet. Med., 48, 191-195.
77. GARCÍA VALLEJO, T.B. (1999). Endoparasitosis del porcino ibérico en Extremadura (España). Epidemiología y control. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura.
78. GARCÍA VALLEJO, T.B., REINA, D., MORA, J.A., FRONTERA, E., BONILLA, F., y NAVARRETE, I. (1999). Cronobiología de las principales parasitaciones endógenas del porcino ibérico en Extremadura. España. *Sólo Cerdo Ibérico*, 3, 97-102.
79. GEENEN, P.L.; BRESCIANI, J.; BOES, J.; PEDERSEN, A.; ERIKSEN, L.; FAGERHOLM, H-P. and NANSEN, P. (1999). The morphogenesis of *Ascaris suum* to the infective third stage larvae within the egg. J Parasitol., 85, 616-622.
80. GERMÁN, P. (1993). Estudios electroforéticos en Nematodos parásitos de ganado de interés económico. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla.
81. GRELCK, H.; HÖRCHNER, F. and UNTERHOLZNER, J. (1981). Serological differentiation of *Ascaris suum* and *Toxocara canis* infections in pigs. Z. Parasitenkd., 65, 277-282.
82. GUPTA, V.; TRIVEDI, K.K. and JAISWAL, R.K. (1982). Immunological studies of *Ascaris suum* antigens on rabbits with indirect haemagglutination test (IHA). Ind. J. Helminthol., 34, 151-162.
83. GUTMAN, G.A. and MITCHELL, G.F. (1977). *Ascaris suum*: location of phosphorylcholine in lung larvae. Exp. Parasitol., 43, 161-168.
84. HABELA, M.A., REINA, D., NIETO, C.G. y SERRANO, F.J. (1987). Influencia de la dehesa en la patología parasitaria del cerdo ibérico. Acta Veterinaria, 1, 63-69.
85. HASWELL-ELKINS, M.R.; KENEDY, M.W.; MAIZELS, R. M.; ELKINS, D.B. and ANDERSON, R.M. (1989). The antibody recognition profiles of humans naturally infected with *Ascaris lumbricoides*. Parasite Immunol., 11, 615-627.

86. HASWELL-ELKINS, M.R.; LEONARD, H.; KENNEDY, M.W.; ELKINS, D.B. and MAIZELS, R.M. (1992). Immunoepidemiology of *Ascaris lumbricoides*: relationships between antibody specificities, exposure and infection in a human community. *Parasitology*, 104, 153-159.
87. HERSKOVIC, P. y ASTORGA, B. (1985). Toxocariasis humana en Chile. *Revista Médica de Chile*, 113, 18-21.
88. HILL, D.E.; FETTERER, R.H. and URBAN, J.F. (1990). Biotin as a probe of the surface of *Ascaris suum* developmental stages. *Mol. Biochem. Parasit.*, 41, 45-52.
89. HILL, D.E.; FETTERER, R.H.; ROMANOWSKI, R.D. and URBAN, J.F. (1994). The effect of immunization of pigs with *Ascaris suum* cuticle components on the development of resistance to parenteral migration during a challenge infection. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 42, 161-169.
90. HOGARTH-SCOT, R.S. and FEERY, B.J. (1976). The specificity of nematode allergens in the diagnosis of human larva migras. *Aus. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, 54, 317-327.
91. HOLLIDAY, L.S. and ROBERTS, T.M. (1995). Isolation and characterization of 30-nm protein particles present in pseudopods of the ameboid sperm of *Ascaris suum*. *Biochem. Biophysic. Research Communications*, 208, 1073-1079.
92. HUSSAIN, R.; STREJAN, G. and CAMPBELL, D.H. (1972). Hypersensitivity to *Ascaris* allergens. VII. Isolation and partial characterization of an allergen. *J. Immunol.*, 107, 1431.
93. HUSSEIN, A.S. and WALTER, R.D. (1995). Purification and characterization of γ -glutamylcysteine synthetase from *Ascaris suum*. *Mol. Bioch. Parasitol.*, 72, 57-64.
94. HWAN JANG, D. (1975). Survey for internal parasites of swine in Korea. *Korean J. Vet. Res.*, 15, 309-314.
95. IGLESIAS, R.; LEIRO, J.; UBEIRA, F.M.; SANTAMARINA, M.T. and SANMARTIN, M.L. (1995). *Anisakis simplex*: stage-specific antigens recognized by mice. *J. Helminthol.*, 69, 319-324.

BIBLIOGRAFÍA

96. IGLESIAS, R.; LEIRO, J.; UBEIRA, F.M.; SANTAMARINA, M.T.; NAVARRETE, I. and SANMARTIN, M.L. (1996). Antigenic cross-reactivity in mice between third-stage larvae of *Anisakis simplex* and other nematodes. *Parasitol. Res.*, 82, 378-381.
97. INDERMÜHLE, N.A. (1978). Endoparasitenbefall beim Schwein. *Schweiz. Arch. Tierheilk.*, 120, 513-525.
98. INOUE, H.; SAKATA, Y.; HAYASHI, T. and TSUJI, M. (1985). Purification and immunological properties of fractionated antigens from *Ascaris suum* body fluid. *Jpn. J. Parasitol.*, 34, 115-126.
99. IZZAT, N.N. and OLSON, L.J. (1970). Resistance of mice to *T. canis* effect of prechallenge infections and injections of worm extracts. *Can. J. Zool.*, 48, 1063-1066.
100. JOACHIM, A. and DAUGSCHIES, A. (2000). Endoparasites in swine in different age groups and management systems. *Berl. Munch. Tierarztl Wochenschr.* 113, 129-33.
101. JOACHIM, A., DÜLMER, N., DAUGSCHIES, A. and ROEPSTORFF, A. (2001). Occurrence of helminths in pig fattening units with different management systems in Northern Germany. *Vet. Parasitol.*, 9, 135-146.
102. JORGENSEN, R.J.; NANSEN, P.; NIELSEN, K.; ERIKSEN, L. and ANDERSEN, S. (1975). Experimental *Ascaris suum* infection in the pig. Population kinetics following low and high levels of primary infection in piglets. *Vet. Parasitol.*, 1, 151-157.
103. JUNGENSEN, G.; ERIKSEN, L.; NANSEN, P. and FAGERHOLM, P. (1997). Sex-manipulated *Ascaris suum* infections in pigs: implications for reproductions. *Parasitol.*, 115, 439-442.
104. JUNGENSEN, G.; ERIKSEN, L.; NIELSEN, C.G.; ROEPSTORFF, A. and NANSEN, P. (1996). Experimental transfer of *Ascaris suum* from donor pigs to helminth naive pigs. *J. Parasitol.*, 82, 752-756.
105. JURASEK, V. (1986). Results of the laboratory examinations of parasitoses in the animals of Mozambique. VI Swine. *Folia Veterinaria*, 30, 99-102.

-
106. JUSTUS, D.E. and IVEY, M.H. (1969). *Ascaris suum*: Immuno-electrophoretic Analysis of Antigens in Developmental Stages. *Exp. Parasitol.*, 26, 290-298.
 107. KASSAI, T. (1999). *Veterinary Helminthology*. Ed. Butterworth-Heinemann. Oxford. UK.
 108. KATO, Y. (1995). Humoral defense of the Nematode *Ascaris suum*: antibacterial, bacteriolytic and agglutinating activities in the body fluid. *Immunology*, 12, 225-230.
 109. KELLEY, G.W. and NAYAK, P. (1964). Acquired immunity to migrating larvae of *Ascaris suum* induced in pigs by repeated oral inoculations of infective eggs. *J. Parasitol.*, 50, 499-503.
 110. KELLEY, G.W. and NAYAK, D.P. (1965). Passive immunity to *Ascaris suum* transferred in colostrum from sows to their offspring. *Am. J. Vet. Res.*, 26, 1113.
 111. KENNEDY, M.W. and QURESHI, F. (1986). Stages-specific secreted antigens of the parasitic larval stages of the nematode *Ascaris*. *Immunology*, 58, 515-522.
 112. KENNEDY, M.W.; QURESHI, F.; FRASER, E.M.; HASWELL-ELKINS, M.R.; ELKINS, D.B. and SMITH, H.V. (1989). Antigenic relationships between the surface-exposed, secreted and somatic materials of the nematode parasite *Ascaris lumbricoides*, *Ascaris suum* and *Toxocara canis*. *Clin. Exp. Immunol.*, 75, 493-500.
 113. KENNEDY, T.J.; BRUER, D.J.; MARCHIONDO, A.A. and WILLIAMS, J.A. (1988). Prevalence of swine parasites in major hog producing areas of the United States. *Agri-Practice*, 9, 25-32.
 114. KOIZUMI, T.; HAYAKAWA, J. and KONDO, K. (1983). *Toxocara canis*: Immunogenic sources of *Toxocara canis* in infected rats. *Jpn. J. Parasitol.*, 32, 379-386.
 115. KOMATSU, T.; NISHIMURA, T.; SANO, R. and SHINCA, S. (1979). *A. suum* suppression of reaginic and haemagglutinating antibody responses in the mouse by crude extract and maintenance fluid. *Exp. Parasitol.*, 47, 158-168.
-

BIBLIOGRAFÍA

116. KRAGLUND, H.O.; GRONVOLD, J.; ROEPSTORFF, A. and RAWAT, H. (1998). Interactions between nematoda parasites of pigss, *Ascaris suum*, and the earthworm *Aporrectodea longa*. Act. Vet. Scan., 39, 453-460.
117. LAGUNA, E. (1998). El cerdo ibérico. Ediciones Mundi Prensa.
118. LAPAGE, G. (1982). Parasitología Veterinaria. Cía. Edit. Continental, S.A. De C.V., México.
119. LARSEN, M.N. and ROEPSTORFF, A. (1999). Seasonal variation in development and survival of *Ascaris suum* and *Trichuris suis* eggs on pastures. Parasitology, 119, 209-220.
120. LAUBACH, H.E. (1984). Lysophospholipase activation with *Ascaris suum* extract. J. Parasitol., 70, 157-158.
121. LEE, C.C.; CHADRAWATHANI, P.; SHEIKH-OMAR, A.R. and MOHNA, S.S. (1987). An abattoir survey of gastrointestinal parasites of pigs. Kajian Veterinar., 19, 27-32.
122. LEJKINA, E.S. (1965). Research on Ascariasis Immunity and Immunodiagnosis. Bull. Wld. Hlth Org., 32, 699-708.
123. LESLIE, J.F.; CAIN, G.K.; HEFFE, G.K. and VRIHENHOKT, R.C. (1982). Enzyme polymorphism in *Ascaris suum* (Nematoda). J. Parasitol., 84, 576-587.
124. LEVINE, N.D. (1978). Tratado de Parasitología Veterinaria. Edit. Acribia. Zaragoza. España.
125. LEY SOBRE LA DEHESA EN EXTREMADURA. Ley 2-5-1986, nº 1/1986, BOE 22-7-1986, Nº 174; DOE 15-5-1986, nº 40, suplemento.
126. LIND, P.; ERIKSEN, L.; NANSEN, P.; NILSSON, O. and ROEPSTORFF, A. (1993). Response to repeated inoculations with *Ascaris suum* eggs in pigs during the fattening period. Parasitol. Res., 79, 240-244.
127. LISBETH, E. THOMSEN, MEJER, H., WENDT, S., ROEPSTORFF, A. and HINDSO, O. (2001). The influence of stocking rate on transmission of helminth parasites in pigs on permanent pasture during two consecutive summers. Vet. Parasitol., 99, 129-146.

-
128. LUKES, S. (1984). Immune response in rabbits experimentally infected with *Ascaris suum*. *Folia Parasitologica*, 31, 339-343.
 129. LUKES, S. (1992). *Ascaris suum*- vaccination of mice with liposome encapsulated antigen. *Vet. Parasitol.*, 43, 105-113.
 130. M.A.P.A. (1974). Anuario de Estadística Agraria.
 131. M.A.P.A. (1977). Inventario Forestal Nacional.
 132. M.A.P.A. (1986). Caracterización agroclimática de la Provincia de Badajoz.
 133. M.A.P.A. (1986). Caracterización agroclimática de la Provincia de Cáceres.
 134. MAGNAVAL, J.F.; GLICKMAN, L.T.; GRIEVE, R.B., CARRIERE, G. et DUBLY, E. (1986). Intérêt de l'immunoélectrophrèse utilisant des extraits d'organes génitaux d'*Ascaris suum* dans le diagnostic de la toxocarose. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 79, 634-641.
 135. MARRETA, J. and CASEY, F.B. (1979). Effect of *A. suum* and other adyuvants on the potentiation of the IgE response in Guinea pigs. *Immunology*, 37, 609-613.
 136. MARTIN, J.; CROMPTON, D.W.T.; CARRERA, E. and NESHEIM, M.C. (1984). Mucosal surface lesions in young protein deficient pigs infected with *Ascaris suum* (nematoda). *Parasitology*, 88, 333-340.
 137. MARTINETTO, P.; CAPPUCINELLI, P. e NEGRO-PONZI, A. (1968). Análisis immunoelecttroforetica degli antigeni de *Ascaris lumbricoides* var. *suum*. I. Composizione antigenica di differenti strutture e del parassita in toto. *Ig. Mod.*, 61, 870-879.
 138. MARTINI, M., POGLAYEN, G. and MANCINI, B. (1988). Swine ascariasis: an epidemiological survey in the province of Cremona, Italy. V European Multicolloquium of Parasitology. Budapest, 4-9 sept. 1988.
 139. McGIBBSON, A.M.; CHRISTIE, J.F.; KENNEDY, M.W. and LEE, T.D.G. (1990). Identification of the major *Ascaris suum* allergen and its purification to homogeneity by high-performance liquid chromatography. *Mol. Biochem. Parasit.*, 39, 163-171.

BIBLIOGRAFÍA

140. McWILLIAN, A.S.; STEWART, G.A. and TURNER, K.J. (1987). An immunochemical investigation of the allergens from *A. suum* parenteric fluid. Cross-reactivity, molecular weight distribution and correlation with phosphorylcholine-containing components. *Int. Arch. Allergy Imm.*, 82, 125-132.
141. MEJER, H., WENDT, S., THOMSEM, L.E., ROEPSTORFF, A. and HINDSBO, O. (2000). Nose-ring and transmission of helminth parasites in outdoor pigs. *Acta Vet. Scand.*, 41, 153-65.
142. MENZIES, F.D.; GOODALL, E.A. and TAYLOR, S.M. (1994). The epidemiology of *Ascaris suum* in pigs in Northern Ireland, 1969-1991. *Br. Vet. J.*, 150, 165-172.
143. MERCY, A.R.; CHANNET, G. and EMMS, Y. (1989). Survey of internal parasites in Western Australian pig herds. I. Prevalence. *Australian Vet. J.*, 66, 4-6.
144. MIELKE, D. and HIEPE, T. (1998). Investigations on the effectiveness of different disinfectants on the basis of P-Chlorine-M-Cresol against eggs of *Ascaris suum* under laboratory conditions. *Berl. Munch. Tierarz. Wochens*, 111, 291-294.
145. MIKULIKOVA, L. (1976). Studies on species specificity of proteins in *Ascaris lumbricoides* and *Ascaris suum*. *Folia Parasitologica*, 23, 45-50.
146. MONTEOLIVA, M.; HERMOSO, R. y SÁNCHEZ, M. (1979). Diagnóstico bioquímico de la Ascariidiosis. *Revista Ibérica de Parasitología*, 39, 9-17.
147. MORA FRANQUÉ, J. (1998). Enfermedades parasitarias de importancia en porcino. *Mundo Ganadero*, 50-56.
148. MORRIS, R.G.; JORDAN, H.E.; LUCE, W.G.; COBURN, T.C. and MAXWELL, Ch.V. (1984). Prevalence of gastrointestinal parasitism in Oklahoma swine. *Am. J. Vet. Res.*, 45, 2421-2423.
149. MOZGOVOI, A.A. (1968). Ascaridata of animals and man and the diseases caused by them. In *essentials of Nematodology*. Ed. By Skrjabin, K.I. Vol. II.
150. NANSEN, P. and ROEPSTORFF, A. (1999). Parasitic helminths of the pigs: factors influencing transmission and infection levels. *Int. J. Parasitol.*, 29, 877-891.

-
151. NANSEN, P., ERIKSEN, L., LIND, P. and ROEPSTORFF, A. (1989). A comparative study on resistance to *Ascaris suum* in parasite naive and naturally exposed pigs of various age categories. 13th Conf. "Ecology and Epidemiology of Internal and External Parasitic Infections". Berlín, 7-11 Aug-1989.
 152. NASCETTI, G.; GRAPPELLI, C.L. e BULLINI, L. (1979). Recerche sul differenziamento genetico di *Ascaris lumbricoides* e *Ascaris suum*. Estratto del fasc. 6, Serie VIII, vol LXVII. Acc. Nazionales dei Lincei, 67, 457-465.
 153. NICHOLS, R.L. (1956). The etiology of visceral larva migrans. II. Comparative larval morphology of *Ascaris lumbricoides*, *Necator americanus*, *Strongylides stercolaris* and *Ancylostoma caninum*. J. Parasitol., 42, 363-399.
 154. NILSSON, O. y MARTINSSON, K. (1980). Influencia de la ascariasis subclínica en cerdos de recría. Cong. Asoc. Int. Vet. Esp. Gan. Porc. Copenhagen. Dinamarca. Resúmenes de Ponencias, 567-568. (DGPA-MAPA).
 155. NILSSON, O., (1982). Ascariasis in the pig. An epizootiological and clinical study. Acta Vet. Scand. Suppl., 79, 1-108.
 156. O'DONNELL, I.J. and MITCHEL, G.F. (1980). An investigation of the antigens of *Acaris lumbricoides* using a radioimmunoassy and sera of naturally infected humans. Int. Archs. Allergy Appl. Immun., 61, 213-219.
 157. OHINISHI, K. and HORI, S.H. (1977). Distribution and characterization of hexose 6-phosphate dehydrogenase in trout. Jpn. J. Genet., 52, 95-106.
 158. OLSON, L.J. (1960). Serology of visceral larva migrans: "in vitro" larval precipitate test. Tex. Rep. Biol. Med., 18, 473-479.
 159. OLUFEMI, B.E. (1980). Enfermedades parasitarias porcinas en Nigeria. Cong. Asoc. Int. Vet. Esp. Gan. Porc. Copenhagen. Dinamarca. Resúmenes de Ponencias, 575-576. (DGPA-MAPA).
 160. ORTEGA MORA, L.M. (1998). Las parasitosis en la producción porcina actual (I): etiología y principales factores epidemiológicos implicados en el control. Anaporc, 182, 157-187.
-

BIBLIOGRAFÍA

161. ORTEGA MORA, L.M. (1998). Las parasitosis en la producción porcina actual (III): programas de control y erradicación. *Anaporc*, 184, 31-42.
162. PAZ SAEZ, A., ROUCO, P.F. y DE LA MORENA, P. (1995). Las dehesas: ecología y producción. *Monográfico Porci*, 29, 19-23.
163. PENCO MARTÍN, D. (1995). El cerdo ibérico y su entorno. Ed. Excma. Diputación Provincial. Badajoz.
164. PÉREZ MARTÍN, J.E., MORA, J.A., ROSADO, D., FRONTERA, E. y SERRANO F.J. (1996). Parasitología del cerdo ibérico en Extremadura. *Mundo Ganadero*, 76, 46-52.
165. PÉREZ-MARTÍN, E., SERRANO, F., REINA, D., BREÑA, M. y NAVARRETE, I. (1991). Efecto de la climatología sobre la parasitofauna del cerdo ibérico de montanera en el sur de Extremadura (España). I Congres. Int. Asoc. Sudocc.-Europeas de Parasitología. Valencia, 1-5 julio 1991.
166. PEREZ-MARTÍN, J.E.; FRONTERA, E.; GARCÍA, T.B.; SÁNCHEZ MURILLO, J.M. y REINA, D. (1999). Situación actual de la ascariosis en la cabaña porcina ibérica extremeña. Libro de resúmenes. VI Congreso Ibérico Parasitología. Córdoba.
167. PETKEVICIUS, S.; BACH KNUDSEN, K. E.; NANSEN, P. and ROEPSTORFF, A. (1996). The influence of diet on infections with *Ascaris suum* and *Oesophagostomun dentatun* in pigs on pasture. *Helminthology* 33, 173-180.
168. PETKEVICIUS, S.; BACH KNUDSEN, K.E.; NANSEN, P.; ROEPSTORFF, A.; SKJOTH, F. and JENSEN. K. (1997). The impact of diets varying in carbohydrates resistant to endogenous enzymes and lignin on populations of *Ascaris suum* and *Oesophagostomun dentatun* in pigs. *Parasitology*, 114, 555-568.
169. PETKEVICIUS, S.; BJORN, H.; ROEPSTORFF, A.; NANSEN, P.; BACH, K.E.; BARNES, E.H. and JENSEN, K. (1995). The effect of two types of diet on populations of *Ascaris suum* and *Oesophagostomum dentatum* in experimentally infected pigs. *Parasitology*, 111, 395-402.
170. POGLAYEN, G.; GENCHI, G.; LAMARTINA, F. e GIOVANNINI, A. (1981). Primi rilievi coprologici in animali allevati in Irpinia. *Parassitologia*, 23, 225-226.

171. PRETI, R., TRALDI, G., BUZINARO, M. e GUENCHI, C. (1990). Le infestazioni da ascaridi nell'allevamento intensivo del suino. *Rivista di suinocoltura*, 3, 51-54.
172. PRICHARD, D.I.; QUINNELL, R.J.; McKEAN, P.G.; WALSH, L.; LEGGETT, K.V.; SLATER, A.F.G.; RAIKO, A.; DALE, D.D.S and KEIMER, A.E. (1991). Antigenic cross reactivity between *Necator americanus* and *Ascaris lumbricoides* in a community in Papua New Guinea infected predominantly with hookworm. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 85, 511-514.
173. QUIROZ, H. (1984). *Parasitología y Enfermedades parasitarias de animales domésticos*. Edit. Limusa. México.
174. REAL DECRETO 195/2002, por el que se establece el plan de seguimiento y vigilancia sanitaria del ganado porcino. BOE nº 152 de 1 de marzo de 2002.
175. REAL DECRETO 324/2000, por el que se establecen normas básicas de ordenación en las explotaciones porcinas. BOE nº 58 de 8 de marzo de 2000.
176. REDDINGTON, J.J.; LEID, R.W. and WESCOTT, R.B. (1986). The susceptibility of the goat to *Fasciola hepatica* infections. *Vet. Parasitol.*, 19, 145-50.
177. RHODES, M.B. ; KERALIS, M.B. and STAUDINGER, L.A. (1982). Immune responses of swine to oral inoculation with embrionated eggs of *Ascaris suum*. *Am. J. Vet. Res.*, 43, 1604-1607.
178. RHODES, M.B. and STAUDINGER, L.A. (1983). Antigens in perienteric fluid of *Ascaris suum* as detected through antibodies in pigs orally inoculated with fully embryonated eggs. *Vet. Parasitol.*, 12, 179-186.
179. RHODES, M.B.; BAKER, P.K.; CHRISTENSEN, D.L. and ANDERSON, G.A. (1988). *Ascaris suum* antigens incorporated into liposomes used to stimulate protection to migrating larvae. *Vet. Parasitol.*, 26, 343-349.
180. RHODES, M.B.; KERALIS, M.B.; STAUDINGER, L.A. and BAKER, P.K. (1986). Immunity of swine to *Ascaris suum*. *Vet. Parasitol.*, 22, 87-94.

BIBLIOGRAFÍA

181. RHODES, M.B.; McCULLOUGH, R.A.; MEBUS, C.A.; KLUCAS, C.A.; FERGUSON, D.L. and TWIEHAUS, M.J. (1977). *Ascaris suum*: hatching of embryonated eggs in swine. Exp. Parasitol., 42, 356-362.
182. RIERA, C. y PORTUS, M. (1988). Diagnóstico de la toxocariasis humana mediante ELISA, con antígeno secretor-excretor de larvas II de *Toxocara canis*. Revista Ibérica de Parasitología, 48, 95-100.
183. RODAS, A. (1999). Matanzas domiciliarias de cerdos en la Zona de Salud de Montijo. Badajoz. Compendio de informes anuales (Campañas 1991-92 a 1996-97). Ed. Excma. Diputación Provincial de Badajoz.
184. ROEPSTORFF, A. (1991). Transmission of intestinal helminths in Danish sow herds. Vet. Parasitol., 39, 149-160.
185. ROEPSTORFF, A. (1997). Helminth surveillance as a prerequisite for anthelmintic in intensive sow herds. Vet. Parasitol., 73, 139-151.
186. ROEPSTORFF, A. (1998). Natural *Ascaris suum* infections in swine diagnosed by coprological and serological (ELISA) methods. Parasitol. Res., 84, 537-543.
187. ROEPSTORFF, A. (1998). Natural *Ascaris suum* infections in swine diagnosed by coprological and serological (ELISA) methods. Parasitol. Res., 84, 537-43.
188. ROEPSTORFF, A. and JORSAL, S.E. (1989). Prevalence of helminth infections in swine in Denmark. Vet. Parasitol., 33, 231-239.
189. ROEPSTORFF, A. and JORSAL, S.E. (1990). Relationship of the prevalence of swine helminths to management practices and anthelmintic treatment in danish sow herds. Vet. Parasitol., 36, 245-257.
190. ROEPSTORFF, A. and MURRELL, K.D. (1997). Transmission dynamics of helminth parasites of pigs on continuous pasture: *Ascaris suum* and *Trichuris suis*. Int. J. Parasitol., 27, 15, 563-572.
191. ROEPSTORFF, A. and MURRELL, K.D. (1997). Transmission dynamics of helminth parasites of pigs on continuous pasture: *Oesophagostomum dentatum* and *Hyostrosngylus rubidus*. Int. J. Parasitol., 27, 553-562.

192. ROEPSTORFF, A. and NANSEN, P. (1994). Epidemiology and control of helminth infections in pigs under intensive and non-intensive production systems. *Vet. Parasitol.*, 54, 69-85.
193. ROEPSTORFF, A., MURRELL, D., BOES, J. and PETKEVICIUS, S. (1999). Transmission rates of *Ascaris suum* in pigs on contaminated pastures. Proc. 17th International Conf. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, Copenhagen, Denmark, 15-19, August.
194. ROEPSTORFF, A., MURRELL, K.D., BOES, J. and PETKEVICIUS, S. (2001). Ecological influences on transmission rates of *Ascaris suum* to pigs on pastures. *Vet. Parasitol.*, 101, 143-153.
195. ROEPSTORFF, A.; ERIKSEN, L.; SLOTVED, H.C. and NANSEN, P. (1997). Experimental *Ascaris suum* infection in the pig: worn population kinetics following single inoculations with three doses of infective eggs. *Parasitology*, 115, 443-452.
196. ROMANIUK, K.; TARCZYNSKI, S.; LIMINOWICZ, J. and SZELQGIWICZ, M. (1983). Parasitoses of pigs under large scale swine production units in KZRP. *Zeszyty naukowe akademii rolniczo-technicznej wolsztynie. Weter.*, 14, 93-109.
197. RUEDA SABATER, L. y MONTES TEJEDA, P. (1990). Parásitos del cerdo en extensivo. *Monografías INIA*, 74, 48.
198. RUIZ, J. (1993). Influencia de la alimentación sobre las características y composición de la grasa subcutánea y hepática del cerdo ibérico. Memoria Tesina de Licenciatura. Universidad de Extremadura.
199. RUIZ, L. y PAZ, A. (1995). El cerdo ibérico y sus productos. *Monográfico Porci*, 29.
200. SÁNCHEZ-MORENO, M.; ENTRALA, E.; JANSSEN, D. and OSUNA, A. (1994). Copper-zinc superoxide dismutase from *Ascaris suum* (Nematoda): Purification and Characterization. *Bioscience Reports.*, 14, 83-90.
201. SAXENA, R.P.; BHATIA, B.; TANDON, A. and SAXENA, K.D. (1983). Effect of diethylcarbamazine on skin test and antibody response. *Ind. J. Exp. Biol.*, 21, 415-418.

BIBLIOGRAFÍA

202. SCHMIDT, G.D. y ROBERTS, L.S. (1984). Fundamentos de Parasitología. Ed. Continental. Méjico.
203. SIMÓN VICENTE, F. (1979). Aspectos parasitológicos de las dehesas salmantinas. Estudio integrado y multidisciplinario de la dehesa salmantina. 1. Estudio fisiográfico descriptivo, 3º fasc., Salamanca-Jaca, 317-327.
204. SMITH, H.V.; QUINN, R.; BRUCE, R.G. and GIRWOOD, R.W.A (1983). Antigenic heterogeneity in some *Ascarioidea* (nematoda) of medical importance. I. Analysis of adult nematodes. Act. Parasitol. Pol., 23, 459-465.
205. SOARES, M.F. and MOTA, I. (1992). Effect of purified components of *Ascaris suum* extracts on IgE antibody response in guinea pigs. Braz. J. Med. Biol. Res., 25, 1137-1140.
206. SOLDATI, G.; GIANAROLI, M.; PAVESI, M. e CARANI, P.G. (1981). Indagine sulla diffusione dei nematodi gastro-intestinali dei suini in provincia de Modena. Atti dell' VIII convegno della Societa Italiana di Patologia e Allevamento dei Suini (SIPAS).
207. SOPRUNOVA, N.YA. (1968). Diagnosis bioquímica de la ascaridiosis. Meditsinskaya. Parazitologiya. Parazitarnie i bolezni, 37, 76-78.
208. SOULSBY, E.J.L. (1987a). Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos. Ed. Interamericana. México D. C., México.
209. SOULSBY, E.J.L. (1987b). Immune responses in parasitic infections: immunology, immunopatology and immunoprophylaxis. CRC. Press.
210. STANKIEWICZ, M. and JESKA, E.L. (1990). Evaluation of pyrantel-tartrate abbreviated *Ascaris suum* infections for the development of resistance in young pigs against migrating larvae. Int. J. Parasitol., 20, 77-81.
211. STANKIEWICZ, M.; JESKA, E.L. and FROE, D.L. (1990). Acquired resistance to migrating larvae of *Ascaris suum* in young pigs by repeated drug-abbreviated infections. J. Parasitol., 76, 383-388.
212. STANKIEWICZ, M.; JONAS, W. and FROE, D.L. (1992). Patent infections of *Ascaris suum* in pigs: effect of previous exposure to multiple, high doses of eggs and various treatment regimes. Int. J. Parasitol., 22, 597-601.

-
213. STEVENSON, P. and JACOBS, D.E. (1977). *Toxocara* infection in pigs. The use of indirect fluorescent antibody tests and an "in vitro" larval precipitate test for detecting spec antibodies. *J. Parasitol.*, 51, 141-154.
214. STROMBERG, B.E. (1979a). The isolation and partial characterization of a protective antigen from developing larvae of *Ascaris suum*. *Int. J. Parasitol.*, 9, 307-311.
215. STROMBERG, B.E. (1979b). Ig E and Ig G1 antibody production by a soluble products of *Ascaris suum* in the guinea-pig. *Immunology*, 38, 489-495.
216. STROMBERG, B.E. (1980). Potentiation of the reaginic (Ig E) antibody response to ovalbumin in the guinea pig with a soluble metabolic product from *Ascaris suum*. *J. Immunol.*, 125, 12.
217. SUAREZ DE MATA, Z.; ZARRANZ, M.; LIZARDO, R. and SAZ, H. (1983). 2-Methylacetoacetyl-Coenzyme A Reductase from *Ascaris* muscle: Purification and properties. *Arch. Biochem. Biophys.*, 226, 84-93.
218. TANAKA, J.; BABA, T. y TORISU, M. (1979). II. Insolation and characterization of eosinophil chmotactic factor and neutrophil chemotactic factor of parasite in ascaris antigen. *J. Immunol.*, 122, 1.
219. TANAKA, K; KAWAMUR, H.; TOHGI, N.; TSUJI, M.; MIYACHI, Y. and MIYOSHI, A. (1983). The measurement of *Ascaris suum* protein by radioimmunoassay in sera from patients with gastrointestinal diseases. *Parasitology*, 86, 291-300.
220. TIJSSSEN, P. (1985). Practice and theory of enzyme immunoassays. Ed. Elsevier.
221. TOHGI, N.; TANAKA, K.; KAWAMURA, H.; MIYACHI, Y. and TSUJI, M. (1983). The employment of radioimmunoassay for the detection of *Ascaris suum* antibodyascariasis in sera from patients with ascariasis. *Jap. J. Parasit.*, 32, 63-70.
222. TORRES, P. y BARRIGA, O.O. (1974). Análisis antigénico de *Ascaris suum*, *Ascaris lumbricoides*, *Toxocara mystax* y *Ascaridia galli*, mediante difusión doble en agar e inmunolectroforesis. *Boletín Chileno de Parasitología*, 29, 79-85.
-

BIBLIOGRAFÍA

223. TRALDI, G.; PRETI, R.; LUINI, M.; BONANOMI, R.; MOHAMED, H. e GENCHI, C. (1988). Indagine sulla diffusione di elminti gastro-intestinali nell'allevamento intensivo del suino in nord Italia. Estratto da selezione Veterinaria, XXIX (1 bis.), 283-287.
224. TROMBA, F.G. (1978). Immunization of pigs against experimental *Ascaris suum* infection feeding ultraviolet-attenuated eggs. J. Parasitol., 64, 651-656.
225. URBAN, J.F. (1981). A rapid method for hatching *Ascaris suum* eggs in vitro. Proc. Helminthol. Soc. Wash., 48, 241-243.
226. URBAN, J.F. (1986). The epidemiology and control of swine parasites. Veterinary Clinics of North America-Food Animal Practice, 2, 765-778.
227. URBAN, J.F. (1993). Acquired Immunity to the nematode parasites for major economic importance in Swine. Food Animal, 15, 1297-1311.
228. URBAN, J.F. and DOUVRES, F.W. (1984). Culture requirements of *Ascaris suum* larvae using a stationary multi-well system: increased survival, development and growth with cholesterol. Vet. Parasitol., 14, 33-42.
229. URBAN, J.F. and DOUVRES, F.W. (1981). In vitro development of *Ascaris suum* from third to fourth stage larvae and detection of metabolic antigens in multi-well culture systems. J. Parasitol., 67, 800-806.
230. URBAN, J.F. and ROMANOWSKI, R.D. (1985). *Ascaris suum*: Protective immunity in pigs immunized with products from eggs and larvae. Exp. Parasitol., 60, 245-254.
231. URBAN, J.F. and TROMBA, F.G. (1982). Development of immune responsiveness to *Ascaris suum* antigens in pigs vaccinated with ultraviolet-attenuated eggs. Vet. Immunol. and Immunopath., 3, 399-409.
232. URBAN, J.F.; ALIZADEH, H. and ROMANOWSKI, R.D. (1988). *Ascaris suum*: Development of intestinal immunity to infective second-stage larvae in swine. Exp. Parasitol., 66, 66-77.
233. URQUHART, G.M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J.L.; DUNN, A.M. and GENNINGS, F.W. (1996). Veterinary Parasitology. 2nd Edition. Blackwell Sc. Ltd. Oxford. UK.

234. URQUHART, G.M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J.L.; DUNN, A.M. y GENNINGS, F.W. (2001). *Parasitología Veterinaria*. Ed. Acribia. Zaragoza. España.
235. VERCRUYSE, J.; VAN HOOF, D. and DE BIE, S. (1997). Study on the prevalence of white spots of the liver in pigs in Belgium and its relationship to management practices and anthelmintic treatment. *Vlaams Diergeneeskdd Tijdschr.*, 66, 28-30.
236. VILAFRANCA, M. (1997). Importancia del control del endoparasitismo en las explotaciones porcinas. *Revista de Producción Animal*, 120, 10-19.
237. WAGNER, B. and POLLEY, L. (1997). *Ascaris suum* prevalence and intensity: an abattoir survey of market hogs in Saskatchewan. *Vet. Parasitol.*, 73, 309-313.
238. WANG, C.Y.; CHOOI, P.L.K.; KIAN, T.S. and WAH, M.J. (1994). Characterization of *Ascaris lumbricoides* and *Ascaris suum* antigens. *Chinese Journal of Parasitic Disease Control*, 7, 104-108.
239. WANG, J.S. (1978). The endoparasitic status of swine in Central Taiwan. *Proc. Dept. of Vet. Med., National Chang-Hsing Univ., Taichung, Taiwan, R.O.C.*, 4, 95-102.
240. WARLEW, A.C.; FORSYTH, L.M.G. and CROMPTON, D.W.T. (1994). Bactericidal activity in the pig roundworm *Ascaris suum*. *J. Appl. Bacteriol.*, 76, 36-41.
241. WELCH, J.S. and DOBSON, C. (1978). Immunodiagnosis of parasitic zoonoses: comparative efficacy of three immunofluorescence tests using antigens purified by affinity chromatography. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 72, 282-288.
242. WINKFEIN, R.J.; PASTERNAK, J.; MUDRY, T. and MARTIN, L.H. (1985). *Ascaris lumbricoides*: characterization of the collagenous components of the adult cuticle. *Exp. Parasitol.*, 59, 197-203.
243. WONG, H.S.; EMBIL, L.A. and OZERE, R.L. (1976). *Ascaris suum* and *Toxocara canis*: eggs extract antigens in guinea pigs and the macrophage migration inhibition test. *Exp. Parasitol.*, 40, 421-426.

BIBLIOGRAFÍA

244. WU, Y.J. and FOOR, W.E. (1982). Immunological studies of the relationship between the antigenic change of *Ascaris* oocytes and the junctional fluid of the fertilization chamber. *J. Parasitol.*, 68, 1048-1052.
245. YOSHIHARA, S.; NAKAGAWA, M. and SUDA, H. (1987). Detection of complement fixation antibody against *Ascaris suum* antigen in pigs with white spots in the liver. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 49, 559-561.
246. YOSHIHARA, S.; NAKAGAWA, M.; SUDA, H.; IKEDA, K. and HANASHIRO, K. (1983). White spots of the liver in pigs experimentally infected with *Ascaris suum*. *Natl Inst Anim Health Q (Tokyo)*. Winter, 23, 127-137.
247. YOSHIHARA, S.; NAKAGAWA, M.; SUDA, H. and KOBAYASHI, K. (1987). Enhancement of white spot lesions in the liver of pigs repeatedly infected with *Ascaris suum*. *J. Tokyo Vet. Anim. Sci.*, 35, 64-71.
248. ZAYATS, R.G. (1978). A comparative study of the protein extracts from some nematodes by polyacrylamide gel electrophoresis. *Biol. Nauki*, 5, 94-96.
249. ZENKA, J. and PROKOPIC, J. (1983). Activities of some enzymes in the parienteric fluid of *A. suum*. *Fol. Parasitol.*, 30, 373-376.
250. ZHELEVA, R.T. (1975). Comparative studies on the antigenic structure of *T. canis* (Werner, 1782) and *A. suum* (Goeze, 1782) in immunodiffusion and immunoelectrophoretic tests. *Med. Parazitol. Parazitar. Bol*, 44, 293-298.
251. ZIMMERMANN, U. and ULMER, W.T. (1981). Effect of intravenous histamine, allergen (*Ascaris suum* extract) and compound 48/80 and inhaled allergen-aerosol on bronchoconstriction and histamine release. *Respiration*, 42, 30-42.



AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quisiera mostrar mi más sincero agradecimiento al **Prof. Dr. D. Ignacio Navarrete** por haber permitido desarrollar este trabajo en la cátedra que dirige. En todo momento supo comprender mi situación laboral no relacionada directamente con la Universidad, facilitándome lo que en su mano estuvo para hacer más llevadera la distancia entre Cáceres y Badajoz.

También me gustaría mostrar mi agradecimiento al **Prof. Dr. D. David Reina**, por su inmensa calidad humana, que no escatimó en medios ni sobre todo en tiempo para atender mis consultas.

Al **Prof. Dr. Francisco Javier Serrano** por haberme ayudado a comprender la importancia de la bioestadística y sobre todo por haber atendido mis peticiones de ayuda cuando la necesité.

A la **Dra. Eva Frontera**, que también perdió mucho tiempo conmigo y puso a mi disposición todos sus trabajos y conocimientos sobre la técnica ELISA de *Ascaris*.

A mis compañeros del Laboratorio Regional de Sanidad Animal, especialmente a **Jesús Polo**, por su colaboración en la conservación e identificación de las muestras, así como en la ejecución de la técnica ELISA.

A los **Dres. Francisco Hurtado, Carlos Vázquez** y a todos los compañeros de los **Laboratorios Comarcales de Cáceres y Zafra**, por su ayuda en la recogida de muestras de los términos de Cáceres y las OVZs dependientes de Zafra.

Al **Dr. Fernando Martínez-Pereda Soto** por haberme facilitado los datos necesarios de la Sección de Patología Porcina del Servicio de Sanidad animal y por haberme pinchado cuando en algún momento me faltaron fuerzas para continuar.

A los **Dres. José María Gómez-Nieves y Rafael Calero Carretero** por la colaboración y apoyo que me dieron en todo momento.

AGRADECIMIENTOS

A **D. Antonio Cabezas**, por haberme facilitado los censos porcinos de Extremadura, en su etapa al frente del Servicio de Sanidad Animal.

A **D. Aniceto Polo**, por su condición de gran conocedor de todas y cada una de las explotaciones porcinas existentes en Extremadura, siendo él, quien me orientó en el carácter de extensividad de las mismas.

A todas aquellas personas, que de una forma u otra, han contribuido a la realización de este trabajo.