

**CAMACHO ORTEGA, PABLO ALFF**

Desarrollo de un protocolo diagnóstico para el registro de enfermedades en zonas de riesgo

75223

2016

**75223**



CREER...CREAR...CRECER

**Universidad Nacional de Río Cuarto  
Facultad de Agronomía y Veterinaria**

Tesis para acceder al título de Magister en Salud y Producción Porcina

**DESARROLLO DE UN PROTOCOLO CLINIMÉTRICO PARA EL  
REGISTRO DE ESTORNUDO EN CERDOS DE RECRÍA**

**M.V. Pablo Alfredo Camacho Ortega**

**DIRECTOR: M.V. Dr. Pablo Jesús Tamiozzo**

**CODIRECTOR: M.V. Dr. Julián Parada**

**Río Cuarto, mayo 2016**

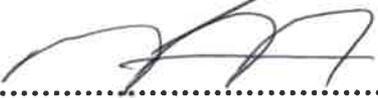
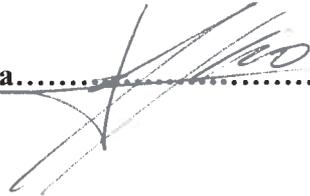
75223

<b>MFN:</b>
Clasif:
T. 1046

DEFENSA ORAL Y PÚBLICA

Lugar y fecha..... Bo. Cuarto, 31 de mayo de 2016.....  
Calificación..... Sobresaliente (10).....

JURADO

Firma..... .....Aclaración..... Alicia CARRANZA.....  
Firma..... .....Aclaración..... José Raviolo.....  
Firma..... .....Aclaración..... José Capucen.....

507



## AGRADECIMIENTO

*Quiero dedicar esta tesis a las personas que hicieron posible que todo este esfuerzo pueda ser plasmado en este trabajo. Comenzar con el grupo de salud porcina (Naly, Alicia, Gabriel, Negro, Roberto, Ismael y Abel) por su apoyo. A Pablo y Julián por aceptar guiarme en este camino. También quiero agradecerle a MILAGROS (mi esposa) por apoyarme y bancarme en este proyecto. Y por último dedicárselo a mis Padres Marina y Agustín.*

## ÍNDICE

Página

Índice de tablas	vi
Índice de gráficos	vii
Índice de figuras	viii
Abreviaturas	ix
Resumen en español	x
Resumen en inglés	xi
1.- INTRODUCCIÓN	1
1.1.- Anatomía y fisiología de la cavidad nasal	2
1.1.1.- Anatomía de la cavidad nasal	2
1.1.2.- Fisiología de la cavidad nasal	3
1.2.- Principales enfermedades que afectan la cavidad nasal	4
1.2.1.- Enfermedad de Aujeszky	5
1.2.2.- Rinitis a cuerpos de inclusión	6
1.2.3.- Virus de Influenza (Influenza A virus)	7
1.2.4.- Rinitis Atrófica	9
1.2.5.- Amoníaco	11
1.3.- Métodos de estudio de las manifestaciones clínicas	12
1.4.- Los principales signos clínicos respiratorios asociados a enfermedades de la cavidad nasal.	13
Estornudo	13
Secreción nasal	13
Secreción ocular	14
Deformación nasal	14
1.5.- Importancia de la clinimetría	14
1.6.- Importancia de los protocolos clínicos	17

2.- HIPOTESIS Y OBJETIVOS	20
2.1.- Hipótesis	20
2.2.- Objetivo general	20
2.3.- Objetivos específicos	20
3.- MATERIALES Y MÉTODOS	22
3.1.-Establecimientos	22
3.2.-Definiciones de los parámetros clínicos a registrar	26
3.3.- Capacitación de expertos	27
3.4.- Diseño del estudio	27
3.4.1.- Estudio transversal	27
3.4.2.- Protocolo para el registro de parámetros clinimétricos	27
3.5.- Análisis estadístico	30
4.- RESULTADOS	33
4.1.-Proporción de animales con estornudo e índice de estornudo en las distintas edades	33
4.1.1.- Proporción e índice de estornudo a las 4 semanas de edad	33
4.1.2.- Proporción e índice de estornudo a las 6 semanas de edad	35
4.1.3.- Proporción e índice de estornudo para las 8 y 10 semanas de edad	37
4.1.4.- Análisis univariado para la proporción de animales con estornudo	41
4.1.5.- Resultados del análisis univariado para el índice de estornudo	42
4.2.- Diferencias entre observadores para la proporción de animales con estornudo e índice de estornudo	43
4.2.1.-Análisis de concordancia para la proporción de animales con estornudo	43
4.2.2.- Resultados del análisis univariado para la proporción de animales con estornudo	45
4.2.3.- Análisis de concordancia para el índice de estornudo	46
4.2.4.- Análisis de la correlación de Pearson	48
4.2.5.- Resultados del análisis univariado para el índice de estornudo	49

4.3.- Análisis de la proporción de animales con estornudo e índice de estornudo	49
4.3.1.- Análisis de la proporción de animales con estornudo	49
4.3.2.- Resultados del análisis univariado para el índice de estornudo	50
4.4.- Análisis univariado para la proporción de animales con estornudo e índice de estornudo por corral	51
4.4.1.- Análisis univariado para la proporción de animales con estornudo	51
4.4.2.- Análisis univariado para el índice de estornudo	52
4.5.- Análisis univariado para la proporción de animales con estornudo e índice de estornudo por edad	53
4.5.1.- Resultados del análisis univariado para la proporción de animales con estornudo	53
4.5.2.- Resultados del análisis univariado para el índice de estornudo	54
4.6.- Análisis univariado para la proporción de animales con estornudo e índice de estornudo por visita	54
4.6.1.- Resultados del análisis univariado para la proporción de animales con estornudo	54
4.6.2.- Resultados del análisis univariado para el índice de estornudo	56
5.- DISCUSIÓN	59
6.- CONCLUSIÓN	66
7.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Página
1	Resultados obtenidos a las 4 semanas de edad en la granja A.	34
2	Resultados obtenidos a las 4 semanas de edad en la granja B.	34
3	Resultados obtenidos a las 4 semanas de edad en la granja C.	35
4	Resultados obtenidos a las 6 semanas de edad en la granja A.	36
5	Resultados obtenidos a las 6 semanas de edad en la granja B.	36
6	Resultados obtenidos a las 6 semanas de edad en la granja C.	37
7	Resultados obtenidos a las 8 semanas de edad en la granja A.	38
8	Resultados obtenidos a las 8 semanas de edad en la granja B.	39
9	Resultados obtenidos a las 8 semanas de edad en la granja C.	39
10	Resultados obtenidos a las 10 semanas de edad en la granja A.	40
11	Resultados obtenidos a las 10 semanas de edad en la granja B.	40
12	Resultados obtenidos a las 10 semanas de edad en la granja C.	41
13	Análisis de concordancia para el total de observaciones en las tres granjas registrada por los tres observadores, en el total de las edades	43
14	Análisis de concordancia para la detección de estornudo para cada una de las granjas, con los tres observadores y para todas las edades	44
15	Análisis de concordancia para la detección de estornudo por los tres observadores para cada edad de vida de los animales donde se ingresó	45
16	Análisis de concordancia para la detección del índice de estornudo, por los tres observadores en todas edades y en las tres granjas	47
17	Análisis de concordancia para la detección del índice de estornudo por los tres observadores para cada una de las semanas de edad de los animales	46
18	Resultados de correlación para los observadores según el tipo de estímulo	48
19	Análisis del coeficiente de correlación para los observadores según tipo de estímulo	48

## INDICE DE GRAFICOS

Gráfico		Página
1	Expresa la proporción de animales con estornudo total, obtenida por los 3 observadores para cada una de las granjas (A, B, C).	42
2	Resultados del índice de estornudo para cada una de las granjas (A, B, C).	43
3	Expresa la proporción de animales con estornudo por cada observador (OB1, OB2, OB3).	46
4	Resultados del índice de estornudo para cada uno de los observadores (OB1, OB2, OB3).	49
5	Expresa la proporción de animales con estornudo por cada uno de los estímulos (0, 1, 2).	50
6	Resultados del índice de estornudo para cada uno de los estímulos (0, 1, 2)	51
7	Expresa la proporción de animales con estornudo por cada uno de los corrales (1, 2, 3, 4).	52
8	Resultados del índice de estornudo para cada uno de los corrales (1, 2, 3, 4).	53
9	Expresa la proporción de animales con estornudo por cada semana de edad (4, 6, 8, 10).	54
10	Resultados del índice de estornudo registrado para cada semana de edad los animales (4, 6, 8, 10).	55
11	Se observan los resultados de la proporción de animales con estornudo registrados en las cuatro visitas.	56
12	Se observan los resultados del índice de estornudo registrado en las cuatro visitas.	57

## ÍNDICE DE FIGURAS

Cuadro		Página
1	Metodologías para el registro de estornudos.	17

Esquema		Página
1	Galpones de destete y recría granja A.	23
2	Galpón de recría granja B.	25
3	Galpón de recría granja C.	26
4	Planilla para el registro de parámetros clínicos.	29

Imagen		Página
1	Imagen aérea de la granja A.	22
2	Imagen aérea de la granja B.	24
3	Imagen aérea de la granja C.	25
4	Estimulo de los animales.	28

## **ABREVIATURAS**

**CRP: Complejo Respiratorio Porcino**

**VEA: Virus de la Enfermedad de Aujeszky**

**CMP: *Citomegalovirus* Porcino**

**VIP: Virus de Influenza A**

**TTV: Torque Teno Virus**

**CVP II: Circovirus Porcino tipo II**

**PCR: Reacción en cadena de la polimerasa**

**ARN: Ácido Ribonucleico**

**LBA: Lavado Bronco-alveolar**

**ELISA: Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas.**

**PPM: Partes por millón**

**LAMP: Amplificación isotérmica de ácidos nucleicos**

**RT-PCR: PCR en tiempo real**

**Q-PCR: PCR cuantitativa**

**SS: Síndrome de Sjögren**

## RESUMEN

Los signos clínicos surgen nuevamente como una herramienta alternativa para el diagnóstico presuntivo de enfermedades. Sin embargo, para lograr obtener datos válidos y con alto nivel de repetitividad en la clinimetría, es necesario contar con protocolos estandarizados. El objetivo de esta tesis fue desarrollar un protocolo para el registro de dos parámetros clínicos (proporción de animales con estornudo e índice de estornudo), para ello se trabajó en 3 granjas confinadas y en animales de 4, 6, 8 y 10 semanas de edad. Cada parámetro clínico fue registrado por tres observadores en ausencia de estímulo como así también con uno y dos estímulos, para la totalidad de los corrales presentes en cada semana de edad.

La mayor proporción de animales con estornudo se observó a las 8 semanas de edad mientras que el valor más alto del índice de estornudo se detectó a las 10 semanas de edad en las tres granjas, esto demostró que el comportamiento del signo clínico fue similar independientemente de la granja y que la combinación de ambos parámetros clínicos permitiría un mejor seguimiento y una mejor conceptualización del comportamiento del estornudo. Respecto a la cantidad de estímulos no hubo diferencias significativas. Esto sugiere que no es necesario movilizar los animales, lo que redundaría en un menor tiempo destinado a obtener la proporción de animales con estornudo e índice de estornudo. El análisis de concordancia entre observadores para la detección del estornudo y para el índice de estornudo resultó en muy buen acuerdo ( $\kappa$  de 0,82 y 0,83 respectivamente) por lo que cualquier observador estaría capacitado para la observación del signo clínico.

Creemos que el desarrollo y la adaptación de este protocolo clinimétrico es una herramienta muy importante para los encargados de granjas ya que el tiempo empleado para registrar los parámetros clínicos sería menor y podrían registrarse de manera simple.

## ABSTRACT

Clinical signs appear again as an alternative tool for presumptive diagnosis of diseases. However, in order to obtain valid data and high level of repeatability in the clinimetry, it is necessary to have standardized protocols. The aim of this thesis was to develop a protocol for the registration of two clinical parameters (proportion of sneezing animals and index sneezing), we worked on 3 farms confined and animals of 4, 6, 8 and 10 weeks old. Each clinical parameter was recorded by three observers in the absence of stimulus as well as one and two stimuli, for all the pens present in every week old.

The highest proportion of sneezing animals was observed at 8 weeks of age while the highest sneezing index value was detected at 10 weeks of age in all, the three farms, this showed that the behavior of clinical sign was similar regardless of the farm and the combination of both clinical parameters allow better monitoring and conceptualization of the sneezing behavior. Regarding the number of stimuli there were not significant differences. This suggests that it is not necessary to mobilize the animals, resulting in less time spent to obtain the proportion of sneezing animals and sneezing index. The analysis of observer agreement for the detection of sneezing and sneezing index resulted in very good agreement (kappa of 0.82 and 0.83 respectively) so that any observer would be able to observe the clinical sign.

We believe that the development and adaptation of this clinimetric protocol is a very important for farm managers as time tool used to record the clinical parameters would be lower and could register simply.

## 1.-INTRODUCCION

La estructura de la producción porcina en Argentina fue cambiando en los últimos 25 años por una tendencia de transformar los sistemas de producción al aire libre en sistemas de producción confinados, dando como resultado que una gran cantidad de animales sean alojados en un mismo lugar, donde el contacto estrecho entre los mismos facilita la transmisión aérea de patógenos dentro (Donham, 1991; Buddle *et al.*, 1997) y entre las pjaras (Jorsal y Thomsen 1988; Stärk *et al.*, 1992). Debido a esto, las enfermedades respiratorias son consideradas un problema serio en los sistemas de producción modernos por las pérdidas productivas y económicas sustanciales que producen (Dee *et al.*, 1997; Pejsak *et al.*, 1997; Garner *et al.*, 2001; Lium 2002; Neumann *et al.*, 2005; Sørensen *et al.*, 2006; Grandia *et al.*, 2010; Jager *et al.*, 2010; Sales *et al.*, 2010)

Dentro de las enfermedades respiratorias, se han descripto las que afectan el tracto respiratorio superior, principalmente la cavidad nasal, produciendo rinopatías y las que afectan el tracto respiratorio inferior, a nivel pulmonar, causando neumonías y pleuritis. Si bien, se han descripto virus, parásitos, bacterias, gases y micotoxinas entre los agentes etiológicos que producen patologías respiratorias, desde hace tiempo se consideró que el impacto productivo de estos agentes está relativamente condicionado por la presencia de partículas en suspensión, humedad, temperatura, ventilación, manejo y diseños de construcción, entre otros factores. Es por ello que varios autores consideran a las enfermedades respiratorias como multifactoriales y complejas, y que, además dos o más agentes pueden actuar de manera simultánea siendo denominado por varios autores como Complejo Respiratorio Porcino (CRP) (Higgins, 1993; Thacker, 2001; Carrasco *et al.*, 2009; Hansen *et al.*, 2010; Opriessnig *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2011). Varios signos y patologías se han descripto para estas enfermedades o complejo de enfermedades, lo cual necesita de un extenso proceso de investigación que excedería el objetivo de este trabajo.

Por ello para esta tesis nos enfocaremos en el estudio de las manifestaciones clínicas que afectan las vías respiratorias altas, en especial las relacionadas a las fosas nasales, revisando los antecedentes correspondientes a: 1)- anatomía y fisiología, 2)- principales enfermedades, 3)- métodos de estudios clínicos.

## 1.1.- Anatomía y fisiología del sistema respiratorio

La anatomía del tracto respiratorio difiere notablemente entre especies de mamíferos. Cada variación en la estructura anatómica implica variación en la función, que puede influir en la patogénesis de la enfermedad respiratoria en una especie en particular (Kuehn, 2013).

El tracto respiratorio se compone de la cavidad nasal, la nasofaringe, la laringe, la vía respiratoria tubular que incluyen la tráquea, bronquios, bronquiolos intra pulmonares, y el sistema de intercambio de gases que incluye los bronquiolos terminales y los alvéolos. Los pulmones y la cavidad torácica están cubiertas por una membrana pleural delgada y translúcida (Clair, 1967; Sørensen *et al.*, 2006).

### 1.1.1.- Anatomía de la cavidad nasal

El hocico o rostro es una proyección cilíndrica con un borde abultado. Es lampiño, liso y se funde con el labio superior. Los orificios nasales son pequeños y redondos, la extremidad rostral del tabique nasal está osificada y forma el hueso del rostro. Los cartílagos forman el armazón de la cavidad nasal y llegan a la escotadura nasomaxilar (Clair, 1967; Dyce *et al.*, 1996). La cavidad nasal es larga y estrecha, excepto en animales pertenecientes a raza de hocico corto (Clair, 1967; Sørensen *et al.*, 2006). Los orificios nasales caudales son largos, redondos y están separados de la porción caudal superior de la fosa nasal por una lámina transversa, y entre sí, por el vómer (Clair, 1967; Adams, 1990; Van Alstine, 2012). El cornete dorsal es delgado en la parte rostral pero poco a poco aumenta de diámetro en sentido caudal, se proyecta ventralmente y hacia adentro para formar la pared dorsolateral de la cavidad nasal, de manera que su borde ventral se sitúa hacia medial con respecto a la parte dorsal del cornete ventral (Clair, 1967; Adams, 1990; Van Alstine, 2012). El cornete ventral es mucho mayor que el dorsal y se adelanta rostralmente, desde un pliegue que abulta a la pared lateral de la cavidad inmediatamente detrás de la abertura nasal anterior. Las paredes de los cornetes están recubiertas de mucosa que se engrosa localmente por la presencia de plexos vasculares (Clair, 1967; Adams, 1990; Van Alstine, 2012). De esta manera, el conducto está algo obstruido, en su parte rostral, excepto dorsalmente. Las volutas del etmoides se proyectan hacia adelante en forma de cornetes medios. Los meatos dorsales y medio son muy estrechos. El meato dorsal conduce directamente el aire hacia la mucosa olfatoria, el meato medio da acceso al sistema de senos y el meato ventral es algo mayor, especialmente en su parte caudal, donde el cornete ventral se pliega

longitudinalmente dando acceso al aire directamente a la faringe. Un pequeño orificio en la parte caudolateral del meato medio comunica con el seno maxilar y en posición dorsal con respecto a aquel se encuentran varios orificios pequeños que comunican con el seno frontal, por intermedio del meato etmoidal. En la parte caudolateral del meato ventral se encuentra la abertura del conducto nasolacrimal (Clair, 1967; Adams, 1990; Van Alstine, 2012).

La mucosa nasal se adhiere al periostio subyacente siendo su grosor variable, en algunas partes delgada, pero en otras muy engrosadas, en particular la región ventral, por la existencia de espacios sanguíneos cavernosos, que hacen de ella un tejido semi-erectil. El grosor de la mucosa varía con el grado de congestión vascular, cuando los vasos están muy congestionados impiden notablemente el paso de aire, provocando sensación de “taponamiento” que se asocia con el catarro nasal (Clair, 1967; Adams, 1990; Van Alstine, 2012).

La región vestibular de la cavidad nasal está recubierta por epitelio escamoso estratificado. El resto de la cavidad nasal está revestida por epitelio ciliado pseudoestratificado con células caliciformes productoras de moco. Este epitelio ciliado está cubierto por un revestimiento de dos capas de moco producidas por las células caliciformes y las glándulas mucosas. Este epitelio continúa a través de la faringe, la laringe, la tráquea y los bronquios (Clair, 1967; Adams, 1990; Van Alstine, 2012).

#### 1.1.2.- Fisiología de la cavidad nasal

El sistema respiratorio realiza varias funciones. Lo más importante, proporciona oxígeno al sistema cardiovascular para su distribución en el cuerpo y elimina el dióxido de carbono, también se protege así mismo por el calentamiento, humidificación del aire inhalado y filtrado del material particulado (Dyce *et al.*, 1999; Van Alstine, 2012).

Aparte del olfato, la cavidad nasal cumple la función de modificar el aire que entra antes de que este acceda a las vías respiratorias inferiores. El aire se calienta a su paso por la mucosa la cual está muy vascularizada. Aquí el aire se humedece por la evaporización de las lágrimas y de la secreción nasal serosa y se limpia por el contacto con las secreciones de las numerosas y dispersas glándulas mucosas, las cuales extienden una alfombra de moco sobre la mucosa nasal que atrapa las partículas y gotitas que entran y se ponen en contacto con ella. Esta alfombra de moco se va trasladando hacia la faringe mediante los cilios del epitelio que reviste la mucosa, para ser deglutidos o expectorados. Las partículas pequeñas pueden ser depositadas tan

profundamente como en los alvéolos, donde son fagocitados por los macrófagos (Dyce *et al.*, 1999; Van Alstine, 2012). La defensa contra la invasión de microorganismos y otras partículas extrañas es proporcionada por las estructuras anatómicas y por mecanismos inespecíficos e inmunológicas (humorales y celulares) (Dyce *et al.*, 1999; Van Alstine, 2012). Estos son los factores que determinan la susceptibilidad individual y de especie a las enfermedades. Otros factores mecánicos incluyen la tortuosidad de los pasajes nasales; presencia de pelos, los cilios y moco; los reflejos de estornudo. Las defensas celulares incluyen macrófagos que fagocitan los agentes invasores y los presentan (o por lo menos sus antígenos importantes) a los linfocitos para la estimulación de una respuesta inmune, y los neutrófilos (Al Suleimani *et al.*, 2007; Lappin, 2001).

Los reflejos producidos como mecanismos de defensa pueden ser signos de diversas enfermedades respiratorias. Los estornudos, la tos, la secreción mucosa y la broncoconstricción representan los componentes principales de una coordinada y eficiente reacción para expulsar o neutralizar agentes irritantes de las vías respiratorias. Mediados por una densa red de nervios sensoriales localizados desde la nariz hasta la parte inferior de las vías respiratorias, por debajo del epitelio, los que detectan estímulos irritantes y activan e inician el reflejo protector (Geppetti *et al.*, 2010).

## **1.2.- Principales enfermedades que afectan la cavidad nasal**

Dentro de los principales agentes que afectan el tracto respiratorio superior se han descrito: la enfermedad de Aujeszky (VEA) producida por el Herpes virus porcino tipo I, la rinitis a cuerpo de inclusión producida por Cytomegalovirus Porcinos (CMP), Influenza Porcina producida por el Virus de Influenza Porcina A (VIP) y la Rinitis atrófica producida por *Bordetella bronchiseptica* (rinitis atrófica no progresiva) y *Pasteurella multocida* toxigénica (rinitis atrófica progresiva). Además gases como el amoníaco y polvillo (Van Alstine, 2012). Recientemente, se ha descrito al Circovirus Porcino tipo II (CVPII) (Harms *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2003; Dorr *et al.*, 2007; Hansen *et al.*, 2010; Wellenberg *et al.*, 2010; Yordanov *et al.*, 2012), sin embargo su papel como agente etiológico dentro de las enfermedades respiratorias todavía no está claro (Fablet *et al.*, 2012).

### 1.2.1.- Enfermedad de Aujeszky

Causada por un herpesvirus porcino suib tipo 1, el cerdo es el huésped natural de este virus. Es capaz de infectar una amplia gama de huéspedes, básicamente todos los mamíferos excepto los primates superiores. Sólo los cerdos son capaces de sobrevivir a una infección. Aunque las cepas aisladas de campo difieren en virulencia, la infección puede causar pérdidas devastadoras con mortalidad en lechones y abortos en cerdas gestantes. Los animales más jóvenes son más susceptibles a la infección con alta mortalidad asociada a signos neuronales, tales como ataxia, convulsiones y muerte súbita. En contraste, los animales de más edad presentan principalmente dificultad respiratoria o incluso infección subclínica. En hembras gestantes la infección resulta en la resorción, momificación de fetos y/o aborto.

Tiene una distribución mundial, a excepción de Noruega, Australia, y la mayor parte de las islas del sudeste asiático. También se encuentra muy extendida en las poblaciones de jabalíes (Müller *et al.*, 2000; 2011). Después del ingreso por vía oronasal, la replicación primaria se produce en las células epiteliales de las vías respiratorias superiores. El virus obtiene acceso a las neuronas que inervan el área facial y orofaríngea, en particular los nervios olfatorio, trigémino y glossofaríngeo y desde aquí por transporte retrógrado axonal se propaga de forma centripeta y llega a los cuerpos celulares de las neuronas donde se produce la infección lítica o latente (Pomeranz *et al.*, 2006). Produce viremia que difunde a muchos órganos, el virus se replica en el epitelio del tracto respiratorio superior, endotelio vascular, linfocitos y macrófagos (Kritas *et al.*, 1999; Mettenleiter, 2000). Las cepas virulentas son predominantemente neuro invasivas y las cepas de moderada o baja virulencia son débilmente neuro invasivas pero, presentan distinto neumotropismo (Romero *et al.*, 2001).

Dentro de los signos clínicos que produce, podemos encontrar fiebre alta seguida de anorexia, apatía, disnea, salivación excesiva, vómitos, temblores y falta de coordinación, sobre todo de los miembros posteriores. Puede haber compromiso de las vías respiratorias con tos, estornudos y puede producirse disnea y neumonía por aspiración (Nauwynck, 1997). Estos signos clínicos pueden estar presentes durante 6-10 días. En los cerdos de desarrollo-terminación los signos clínicos pueden agravarse por una infección bacteriana secundaria. En lechones neonatales y hasta las 2 o 3 semanas de edad puede presentar mortalidad del 100% pudiendo disminuir al 50% a la cuarta semana de edad, en cerdos de mayor edad la mortalidad puede ser del 5%. No presenta lesiones macroscópicas específicas, pero puede observarse

particularmente en cerdos lactante, necrosis multifocal en tejidos como en el hígado, el bazo, y las glándulas suprarrenales. Típicamente, queratoconjuntivitis exudativa, serosa a la rinitis fibrinonecrótica, laringitis, traqueítis, y amigdalitis necrotizante pueden estar presentes. Las lesiones en el tracto respiratorio inferior pueden ser edema pulmonar y dispersa pequeños focos de necrosis, hemorragia o neumonía broncointersticial. Las lesiones microscópicas en el sistema nervioso central es una meningoencefalomielitis no supurativa, pero a nivel respiratorio podemos encontrar focos de necrosis en el epitelio de las vías respiratorias. El diagnóstico se realiza a través del aislamiento o detección del virus de muestras como el ganglio trigémino, ganglio olfativo y las tonsilas. Otros métodos diagnósticos empleados son las pruebas serológicas.

#### 1.2.2.- Rinitis a cuerpos de inclusión

Producida por el Citomegalovirus Porcino, se denominada así porque se observaron inclusiones basófilas intranucleares en las células de la mucosa de los cornetes, glándulas mucosas, glándulas lacrimales y salivales (Duncan *et al.*, 1964). La infección por CMP suele ser subclínica en adultos pero a menudo produce una infección fatal en los lechones infectados congénitamente o de manera perinatal (Edington *et al.*, 1976a) o puede producir rinitis y neumonía (Cameron-Stephen, 1961; Duncan *et al.*, 1964; Edington *et al.*, 1977; Orr *et al.*, 1988; Yoon *et al.*, 1996; Smith, 1997). Este virus se encuentra distribuido en todo el mundo, se transmite horizontalmente a través de la vía oronasal, se elimina a través de los signos clínicos que produce como en las secreciones nasales, oculares, estornudo y tos (Done, JT. 1955; Cameron-Stephen, 1961; Duncan *et al.*, 1964; Edington *et al.*, 1977; Orr *et al.*, 1988; Rondhuis *et al.*, 1980; Yoon and Edington 2006). La enfermedad es generalmente auto limitante si no se complica. La morbilidad es del 100% y la mortalidad media en una piara inmunológicamente negativas es de aproximadamente del 10% pero puede elevarse al 50% con infecciones secundarias (Deim *et al.*, 2006). No presenta cambios macroscópicos pero microscópicamente se observan cuerpos de inclusión intranucleares basófilos y citomegalia en las glándulas mucosas, acinares, conducto de Harder y las glándulas lacrimales, siendo estos los sitios principales de replicación del virus. La destrucción de sus células resulta en una marcada rinitis y conjuntivitis. Para el diagnóstico se debe diferenciar de aquellas enfermedades que producen signos clínicos respiratorios similares. Para el diagnóstico *antemortem* las muestras de elección

pueden ser la secreción nasal mediante el empleo de un hisopo y a través de sangre para pruebas serológicas (Edington *et al.*, 1976a). *Post-mortem* la muestra de preferencia es la mucosa de los cornetes (Edington *et al.*, 1976c). Las técnicas diagnósticas que se puede emplear son la amplificación isotérmica (LAMP) (Yang JinLong *et al.*, 2012) o la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y PCR en tiempo real (RTPCR o Q-PCR) que permite un diagnóstico más sensible (Hamel *et al.*, 1999; Widen *et al.*, 1999 Fryer *et al.*, 2001; Yang *et al.*, 2013).

### 1.2.3.- Influenza porcina

Los virus de influenza son miembros de la familia *Orthomyxoviridae*, se clasifican por tipo, subtipo, y genotipo: Tipos A, B, y C. Sólo los virus de la gripe A son de importancia clínica habitual como patógenos porcinos, los subtipos de virus de la gripe A se definen por la naturaleza de la hemaglutinina (HA o H) y la neuraminidasa (NA o N), por ejemplo H1N1, H3N2. (Wright *et al.*, 2007). El análisis filogenético se lleva a cabo mediante la determinación de la secuencia genética de cada segmento de ácido ribonucleico (ARN) viral (Cappuccio *et al.*, 2011).

Además de los cerdos domésticos y los seres humanos, los virus también han sido capaces de infectar al jabalí (Saliki *et al.*, 1998) y otras especies animales (Hinshaw *et al.*, 1983; Wright *et al.*, 1992; Ludwig *et al.*, 1994; Wood *et al.*, 1997; Suarez *et al.*, 2002; Olsen *et al.*, 2003; Choi *et al.* 2004; Tang *et al.*, 2005; Olsen *et al.*, 2006; Ramakrishnan *et al.*, 2010). Los cerdos pueden ser infectados naturalmente adquiriendo diversos subtipos de virus, por ejemplo, H1N1, H3N2, H3N3, H4N6 (Kida *et al.* 1988; Guan *et al.*, 1996; Brown 2000; Karasin *et al.*, 2000, 2004; Cappuccio *et al.*, 2011; Dibarbora *et al.*, 2013), H5N1 y H9N2 (Choi *et al.*, 2005; Peiris *et al.*, 2001; Shi *et al.*, 2008; Takano *et al.*, 2009). Históricamente, los brotes con mayor frecuencia se presentan al final del otoño y en invierno, a menudo en asociación con el inicio de las temperaturas más frías. Sin embargo, los estudios han demostrado que el virus circula durante todo el año (Hinshaw *et al.*, 1978; Van Reeth y Pensaert 1994; Olsen *et al.*, 2000; Kyriakis *et al.*, 2011) en granjas confinadas por lo que la estacionalidad de la enfermedad es menos importante. El virus de influenza se introduce con mayor frecuencia en las piaras a través del movimiento de reproductores, siendo la principal vía de transmisión el contacto de cerdo a cerdo (Larsen *et al.*, 2000; Landolt *et al.*, 2003; Van Reeth *et al.*, 2003; De Vleeschauwer *et al.*,

2009a; b). La transmisión por aerosol se ha demostrado (Tellier, 2009) por lo que puede contribuir a la propagación del virus en zonas con alta densidad de cerdos.

La patogénesis de la gripe en los cerdos es muy similar a la de los seres humanos (Van Reeth *et al.*, 1998; De Vleeschauwer *et al.*, 2009a; Khatri *et al.*, 2010). El virus replica en las células epiteliales del tracto respiratorio superior e inferior de los cerdos (mucosa nasal, etmoidal, tráquea y pulmones) por lo que la excreción y la transmisión se produce exclusivamente a través de las vías respiratorias. De este modo el virus se puede aislar de estos tejidos así como de las tonsilas y los ganglios linfáticos en el tracto respiratorio y de lavado broncoalveolar (LBA), hisopados nasal y orofaríngeo (Brown *et al.*, 1993; Heinen *et al.*, 2001; Landolt *et al.*, 2003; Richt *et al.*, 2003; De Vleeschauwer *et al.*, 2009a, b; Vincent *et al.*, 2009; Khatri *et al.*, 2010).

Los brotes de gripe se caracterizan por fiebre alta (40,5 - 41,5°C), anorexia, apatía, taquipnea y después de unos pocos días, aparece la tos, la respiración abdominal y la disnea. En otras palabras, la signología de la enfermedad podría dividirse en dos fases, una fase prodrómica con aparición de estornudo y una baja proporción de animales con temperatura elevada (<20%). Una fase drómica o de enfermedad donde el estornudo puede estar asociado a un aumento en la frecuencia de animales con tos y episodios de tos (>20%) al igual que con temperaturas altas (Rose *et al.*, 2013). El inicio de la enfermedad es repentino después de un periodo de incubación de 1-3 días. La enfermedad presenta una alta morbilidad (hasta 100%), pero una baja o nula mortalidad (menos del 1%) y la recuperación comienza al cabo de los 5 a 7 días después de iniciado el cuadro (Rose *et al.*, 2013). Las lesiones macroscópicas son principalmente una neumonía viral, más a menudo limitada a los lóbulos apicales y cardíacos del pulmón (Landolt *et al.*, 2003; Richt *et al.*, 2003; Khatri *et al.*, 2010).

El diagnóstico clínico es sólo presuntivo ya que los signos no son patognomónicos y deben diferenciarse de una variedad de enfermedades respiratorias. Un diagnóstico definitivo sólo es posible mediante el aislamiento del virus (Swenson *et al.*, 2008), la detección de proteínas víricas o de ácidos nucleicos, mediante métodos moleculares como la PCR. También se utilizan pruebas serológicas como el ELISA (Ciacci-Zanella *et al.*, 2010; Barbé *et al.*, 2009; Leuwerke *et al.*, 2008).

#### 1.2.4.- Rinitis Atrófica

Enfermedad del cerdo caracterizada por retraso en el crecimiento (Donkó *et al.*, 2003) con desaparición parcial o total de los cornetes nasales. Puede ser clasificada como rinitis atrófica no progresiva (RANP), causada por cepas toxigénicas de *B. bronchiseptica* y rinitis atrófica progresiva (RAP), causada por cepas toxigénicas de *Pasteurella multocida*, sola o en combinación con otros agentes (por ejemplo con *B. bronchiseptica*). La lesión característica causada por ambos agentes es una atrofia de cornetes de moderada a grave, esto se acompaña por grados de distorsión facial (incluyendo braquignatia, desviación superior y lateral del hocico, y desviación del tabique) y hemorragia nasal como resultado de estornudos frecuentes (Wabacha y Mulei, 2000).

#### Rinitis atrófica no progresiva.

Es producida por *Bordetella bronchiseptica*, bacteria gram negativa, que se aísla ampliamente de cerdos con rinitis y de cerdos con neumonía como así también de cerdos sin signos clínicos. También es considerada un patógeno o potencial patógeno de muchos otros mamíferos (Khayer *et al.*, 2014). *Bordetella bronchiseptica* es muy prevalente en los países con gran producción de cerdos donde la prevalencia de la infección supera ampliamente a la presencia de cuadro clínico (Kumar *et al.*, 2014). Este agente ingresa principalmente por la introducción de cerdos portadores siendo la cerda importante en la transmisión. La infección de los cerdos puede producirse a una edad temprana incluso cuando los signos clínicos aparecen al final de la fase de engorde. El principal modo de transmisión es de cerdo a cerdo por gotitas de aerosol. La alta prevalencia de la infección entre los cerdos en crecimiento sugiere que la transmisión puede ocurrir a cualquier edad pero es probable que sea más común y fácil en cerdos jóvenes (Smith *et al.*, 1982).

*Bordetella bronchiseptica* coloniza la cavidad nasal mediante la adhesión a la mucosa nasal donde probablemente se une a las células epiteliales ciliadas (Brockmeier *et al.*, 2002). Seguido por la multiplicación en la superficie de la mucosa y la producción de la toxina, que conduce a cambios inflamatorios, proliferativos y degenerativos en el epitelio nasal, incluyendo la pérdida de cilios (Edington *et al.*, 1976b) Se supone que el organismo en la superficie de la mucosa elabora una toxina que se difunde en el núcleo óseo del cornete nasal y es responsable de la osteopatía. Esto lleva a que los principales signos observados sean estornudos y resoplido en

cerdos jóvenes con un grado variable de rinitis catarral y con producción de descarga nasal serosa o mucopurulenta, que aumentan en severidad durante un tiempo y tienden a disminuir después de unas semanas. Aunque los signos clínicos son sugestivos de infección, un diagnóstico definitivo de *B. bronchiseptica* en los cerdos sólo es posible por el examen bacteriológico y la PCR a partir de hisopados nasales (Farrington y Switzer, 1977; Rutter, 1981; Pomorska-Mol *et al.*, 2011).

### Rinitis atrófica Progresiva

Es producida por *Pasteurella multocida* toxigénica, es un bacilo o cocobacilo gram negativo. La introducción del agente y su posterior propagación dentro de una población dependerá de numerosos factores. La estimación de la prevalencia de la RAP, ya sea de una explotación individual o una población más grande, se realiza normalmente mediante un monitoreo en frigorífico (Cameron *et al.*, 1980; Nielsen, 1983). Sin embargo, no refleja un nivel equivalente de enfermedad clínica, ya que las lesiones leves son comunes en granjas comerciales, en cerdos de engorde y la atrofia leve o incluso moderada en individuos puede ocurrir en piaras sin enfermedad clínica evidente o lo que se denomina de presentación subclínica (Parada *et al.*, 2010).

*Pasteurella multocida* aparentemente coloniza la cavidad nasal en ausencia de un daño preexistente de la mucosa (Elling y Pedersen, 1983). Si bien, agentes químicos diversos como el amoníaco inducen diferentes modificaciones del epitelio nasal. Estas acciones causan la producción de diferentes tipos de mucinas producidas por la mucosa nasal, lo que resulta en un entorno nasal favorable para la colonización de *P. multocida* (Martineau-Doize *et al.*, 1991a; b; Gagne y Martineau-Doize, 1993). *Pasteurella multocida* toxigénica produce una variedad de cambios degenerativos en los cornetes ventrales: hiperplasia epitelial, atrofia de las glándulas mucosas, aumento en el volumen de los vasos sanguíneos, osteólisis, y una proliferación de las células mesenquimales las cuales eventualmente reemplazan las trabéculas del hueso y tejidos osteogénicos. Los signos clínicos no se ven generalmente en los cerdos hasta cerca de 4-12 semanas de edad, dependiendo de la gravedad del brote, pero los primeros signos que se registran en lechones son estornudos y resoplidos como resultado de una rinitis catarral aguda, aunque ellos no son específicos para el diagnóstico. Los cerdos afectados continúan estornudando y resoplando durante el período de crecimiento; esto va acompañado de una

variable cantidad de descarga nasal serosa a mucopurulenta. En los animales gravemente afectados el estornudo puede ser pronunciado y en ocasiones se puede presentar sangrado nasal unilateral, material mucopurulento e incluso piezas de desechos de los cornetes pueden ser expulsados de la nariz tras episodios de estornudos violentos. Para el diagnóstico de este agente se debe tener en cuenta toda la gama de signos clínicos, pero con ellos solo es posible realizar un diagnóstico presuntivo de RAP. Pero la presencia de unos pocos hocicos desviados o estornudos por sí solos no son pruebas suficientes para justificar un diagnóstico de RAP.

El diagnóstico *postmortem* se realiza para determinar la prevalencia y la gravedad de atrofia de los cornetes, mediante las necropsias en granja o por monitoreo en frigorífico (Goodwin, 1988). Para el diagnóstico definitivo se requieren el cultivo de hisopos nasales (Pedersen y Nielsen, 1983). También se puede utilizar la PCR para la detección de cepas dermonecróticas de *P. multocida* directamente de hisopados nasales (Cheng *et al.*, 2003; Markowska-Daniel *et al.*, 2009).

#### 1.2.5.- Amoníaco

El gas de amoníaco (NH<sub>3</sub>) se forma por la descomposición de residuos animales (materia fecal y orina) y es el contaminante tóxico presente con mayor frecuencia en el aire en la mayoría de las instalaciones donde habitan los cerdos, este gas tiene un olor característico que puede ser detectado por las personas en concentraciones de aproximadamente 10 partes por millón (ppm) o incluso en niveles menores, considerando este valor en ppm como nivel máximo límite ya que tiene poco efecto perjudicial sobre la salud de los cerdos. Las concentraciones de NH<sub>3</sub> en instalaciones cerradas generalmente permanecen por debajo de 30 ppm, incluso con bajas tasas de ventilación; sin embargo, puede llegar a concentraciones más altas (Ensley y Osweiler, 2012). Este gas es muy soluble en agua, y como tal reacciona con las membranas mucosas húmedas produciendo irritación de las membranas mucosas de los ojos causando lagrimeo excesivo, de los conductos nasales causando secreción serosa o purulenta en infecciones secundarias y de los pulmones llegando a producir respiración superficial, siendo estos los signos comunes de la intoxicación con NH<sub>3</sub> (Urbain *et al.*, 1994; 1996). Podría tener efectos similares en los trabajadores de las granjas de cerdos (Hartung, 2005). El impacto principal de este gas es influir directamente en el crecimiento de los cerdos como un factor de estrés crónico o como precursor de enfermedades infecciosas secundarias. Diversas investigaciones sugieren

que las concentraciones tóxicas de NH<sub>3</sub> de 50 a 100 ppm reducen la tasa de crecimiento en un 12% a un 30% (Drummond *et al.*, 1980; Neumann *et al.*, 1987a). Por otro lado, las concentraciones de 50 o 75 ppm reducen la eliminación de bacterias de los pulmones (Drummond *et al.*, 1978) ya que interfiere con el aparato mucociliar, exacerbando las lesiones de los cornetes nasales en cerdos infectados con *B. bronchiseptica* y pueden influir en el curso de enfermedades infecciosas (Neumann *et al.*, 1987b). Cuando se combinan concentraciones de 100 ppm junto a otros agentes como los parasitarios (*Áscaris suum*) en un mismo momento se produce un efecto aditivo, llevando a la reducción de la tasa de ganancia diaria de peso en un 61% (Drummond *et al.*, 1981).

Como se mencionó, el estornudo puede ser la manifestación clínica de diversas enfermedades que afectan, el tracto respiratorio.

### **1.3.- Métodos de estudio de las manifestaciones clínicas**

El diagnóstico de las enfermedades como las descriptas, está basado en lo que se denomina patrón de diagnóstico de certeza, este patrón incluye aspectos epidemiológicos, signos clínicos, examen patológico de los tejidos y la detección directa del agente patógeno. Si consideramos que los signos clínicos se encuentran dentro de este patrón, los mismos vuelven a recobrar importancia como una herramienta alternativa para el diagnóstico presuntivo de enfermedades (Nathues *et al.*, 2012). Las enfermedades descriptas anteriormente pueden presentarse con cuadros clínicos característicos bien definidos o de forma subclínica o crónicas, siendo este último tipo de presentación una de las causas de mayores pérdidas económicas debido a que afectan el rendimiento productivo de los animales, reducen la eficiencia de conversión de alimento y generan mayores costos de medicación (Holyoake *et al.*, 1996; Sørensen *et al.* 2006; Stärk & Nevel, 2009). Además, el diagnóstico de este tipo de presentación clínica es muy dificultoso para los veterinarios encargados de las granjas, debido a las diversas tareas que ellos realizan, la falta de técnicas accesibles, las distancias y el tiempo limitado para la observación de los animales, y la falta de una metodología adecuada para el diagnóstico ya que la misma está poco descrita en la bibliografía (Petersen *et al.*, 2004). En aquellos momentos donde los veterinarios pueden realizar al menos una inspección, muchas veces por la falta de protocolos detallados, solamente registran la presencia o ausencia de un único síntoma clínico como tos o estornudo y a veces por la falta de definiciones conceptuales en la expresión de los

mismos pueden llegar a confundir la tos con el estornudo, lo que puede dificultar la interpretación de los resultados, llevándolo de esta manera a tomar inadecuadas medidas de control para las enfermedades diagnosticadas (Baadsgaard y Jørgensen, 2003).

#### **1.4.- Los principales signos clínicos respiratorios asociados a enfermedades de la cavidad nasal**

Entre los principales signos respiratorios asociados a patologías de la cavidad nasal que se pueden observar tenemos: estornudo, secreciones nasales y oculares con sus diferentes exudados (seroso, mucoso, y/o muco-purulento) (Ramirez Benavides, 2005; kirkeby *et al.*, 2011) También podemos sumar a estos la deformación nasal (Baadsgaard, y Jørgensen, 2003).

Para poder entender cada uno de los signos clínicos es necesario definirlos ya que la misma se parte para el desarrollo de un protocolo.

##### **Estornudo**

El estornudo es un reflejo superficial que se origina en las membranas mucosas que recubren la cavidad nasal, inducido por estímulos químicos o mecánicos que da como resultado una inspiración brusca, involuntaria y repentina seguida de una expulsión estrepitosa y violenta del aire de los pulmones por la nariz (Al Suleimani *et al.*, 2007; Lappin, 2001). El aire que sale disparado desde los pulmones puede ser expulsado a una velocidad promedio de 110 a 160 kilómetros por hora y contamina un área de 6 metros cuadrados (Arancibia Ulloa, 2009).

##### **Secreción nasal**

De forma normal, funciona como mecanismo defensivo para capturar y eliminar partículas extrañas. Sin embargo, a veces se produce una secreción nasal excesiva que provoca goteo, congestión o emisión de exudado al exterior. La excesiva cantidad puede indicar gravedad del proceso patológico. Puede presentar varios tipos de secreciones con diferentes características (Ramirez Benavides 2005): 1) serosa: salida por los ollares de un fluido ligero, translúcido (transparente), semejante al suero (líquido y transparente), 2) mucosa: secreción líquida o semisólida opaca (gris y nublado), 3) muco-purulenta: secreción semisólida espesa y de color verde-amarillento (Lappin, 2001; Gordon, 2011).

## Secreción ocular

La conjuntiva del párpado está recubierta por los productos de secreción de las glándulas lagrimales y de los párpados, y por mucinas producidas por las células caliciformes conjuntivales, la excesiva cantidad puede indicar severidad del proceso y puede presentar varios tipos de secreciones con diferentes características (Ramírez Benavides, 2005; Kirkeby et al., 2011). Las mismas pueden ser. 1) Serosa: salida de un fluido ligero, translucido, semejante al suero o 2) mucosa: contiene mucus de aspecto semisólido.

## Deformación nasal.

Entre estas alteraciones podemos encontrar braquignatismo superior, debido a que el hueso maxilar deja de crecer y también se puede observar desviación lateral comúnmente hacia el lado más afectado como se observan en casos de rinitis atrófica progresiva (Caswell y Williams, 2007).

## **1.5.- Importancia de la clinimetría**

La clinimetría, se puede definir como una estrategia utilizada en la medicina clínica humana, que se basa principalmente en medir fenómenos clínicos: síntomas, hallazgos fisiopatológicos, estado de la enfermedad o la gravedad como así también manifestaciones físicas objetivas (modificaciones del pulso, dilatación cardíaca, etc), químicas (albuminuria, hiperglicemia) o del comportamiento (disminución de la postura, agresividad, disminución de la producción lechera, disminución de la ganancia diaria de peso, anorexia) que el veterinario clínico debería reconocer o provocar durante el procedimiento del examen (Feinstein, 1987; Ramírez Benavides, 2005). Estas mediciones se realizan a través de “instrumentos” que deben mostrar buena calidad de medición, haciendo esto referencia a la especificidad, sensibilidad de estos instrumentos y por otro lado calidad de desempeño, estos instrumentos no solo abarcan imágenes técnicas, exámenes histológicos, mediciones químicas sino también cuestionarios y planillas que permitan registrar signos clínicos. Para comprender mejor lo que significa calidad de desempeño de las mediciones podríamos decir que esta depende, por ejemplo, de la experiencia de las personas que llevan a cabo las mediciones, la atención que se presta por un paciente a una encuesta, siendo esto crucial cuando se utilizan instrumentos de medición en la investigación o en la práctica clínica (De Vet *et al.*, 2003).

Al elegir el mejor instrumento de medición, se debe juzgar las propiedades clinimétricas de los mismos ya que estos nos ayudarán a establecer el diagnóstico presuntivo, pronóstico y tratamiento de enfermedades (Marx *et al.*, 1999; Steen, 2001; Larsen *et al.*, 2001; De Vet *et al.*, 2003; Klaas *et al.*, 2003, 2004; Rohn *et al.*, 2004; Díaz-Coto *et al.*, 2011).

El término clinimetría es utilizado ampliamente en diversos trabajos de investigación realizados en humanos, por ejemplo en crisis convulsivas, síndrome de Sjögren (SS) y lesiones traumáticas del plexo braquial, donde se emplean escalas de medición e instrumentos de medición.

Para poder comprender la importancia de los instrumentos de la clinimetría en estas alteraciones, vemos que en las convulsiones, se evalúan fenómenos motores, características asociadas y gravedad de los ataques no epilépticos psicogénicos a través de la aplicación de un protocolo en el cual se registran los signos presentes evaluados mediante diversas maniobras semiológicas, en una escala basada en seis fenómenos motores en trece regiones del cuerpo y cinco características asociadas. En la primera parte de la escala, cada fenómeno es clasificado como presente o ausente y, si está presente se lo clasifica por gravedad y duración en una escala de 0 (bajo) a 4 (la más alta). La segunda parte registra presencia y ausencia de las características asociadas. En este caso la escala propuesta evalúa con precisión el fenómeno y gravedad (Cianci *et al.*, 2011).

En el síndrome de Sjögren (SS) (ojos secos y boca seca), se emplean instrumentos que ayudan a establecer el diagnóstico y evalúan el estatus de la enfermedad. En relación al ojo se evalúa el volumen y calidad de la película lagrimal, para esto se emplea tinciones como el rosa de bengala, fluoresceína y otros, permitiendo clasificar la intensidad de la tinción en tres puntuaciones (1, 2 y 3) para rosa de bengala y de 0 a 6 para la fluoresceína. En relación a la sequedad de la boca se evalúa la función de la glándula salival, mediante sialometría (mediciones de tasa de flujo salival) y por métodos sialoquímicos, la composición de la saliva. Varios métodos han sido empleados para evaluar la saliva y la participación lagrimal en el SS, sin embargo, un número limitado de ellos han sido sometidos a una evaluación para establecer su utilidad clínica. Combinaciones de diferentes pruebas se realizan comúnmente para determinar un diagnóstico preciso. Algunas herramientas parecen ser más apropiado para fines de selección (es decir, prueba de Schirmer y la prueba de la oblea), mientras que otros tienen un

valor más alto de diagnóstico (es decir, matrices vitales y sialometría) o se emplean sólo en la investigación (Hernández-Molina et al., 2013).

Por otro lado, en la lesión traumática del plexo braquial en personas adultas, el instrumento empleado en la primera fase es un cuestionario desarrollado a través de diez bases de datos, algunos evalúan la función del cuerpo o estructura corporal, otros evalúan la actividad de la extremidad superior, como así también existen cuestionarios que evalúan la discapacidad del brazo, hombro y mano. La segunda fase fue identificar y evaluar las propiedades clinimétricas de estos cuestionarios (Hill et al., 2011).

En medicina veterinaria tenemos ejemplos de uno de los signos más característicos como podría ser la tos, síntoma directo de enfermedad respiratoria, puede ser causado por una variedad de agentes infecciosos, influenciado por co-infecciones y o tener una etiología variada. Sin embargo, en el engorde de cerdos, la tos seca y no productiva, es un síntoma típico de neumonía enzoótica porcina y, cuando se combina con la detección del *Mycoplasma hyopneumoniae* su agente causal, podría ser utilizado con fines de diagnóstico (Nathues et al., 2012). Si este es el caso, la cuestión sigue siendo si se requiere la detección directa del agente patógeno o su evidencia indirecta (por ejemplo, respuesta de anticuerpos séricos) es suficiente en cerdos. Si bien la tos es un síntoma típico de la neumonía enzoótica en los cerdos en crecimiento y de engorde, este parámetro podría ser una adición útil a otras técnicas, pero el umbral debe ser establecido y la fiabilidad y la repetibilidad se debería evaluar. Diversos trabajos solo registran presencia y ausencia (Morris et al., 1995; Thacker et al., 2001; Fano et al., 2005; Thacker et al., 2006; Mujeeb et al., 2009; Wilson et al., 2012; Pomorska-Mól et al., 2013), también se han desarrollado escalas de gravedad para este signo las cuales pueden ir de 0 a 2 (Woolley et al., 2012; Vilalta et al., 2012), de 0 a 3 (Ural et al., 2011), de 1 a 5 (Harvey, 1994) y de 0 a 6 (Halbur et al., 1996; Maes et al., 2005). Por otro lado se han implementado medir la frecuencia del signo clínico (Scheidt et al., 1994; Maes et al., 1999; Halloy et al., 2004; 2005; Laohasinnarong et al., 2008; Rose et al., 2013), como así también se desarrolló un índice de tos (Bahnson 1993; Leon et al., 2001; Moreau 2004; Fablet et al., 2012; Nathues et al., 2012), por otro lado también se han implementado el registro de sonidos acústicos (Hirtum et al., 2004; Aerts et al., 2005; Ferrari et al., 2008 a y b; Guarino et al., 2008; Silva et al., 2008).

En nuestro tema en particular que es el estornudo las metodologías empleadas para el registro de este signo clínico se basan en observar la presencia y ausencia como así también la frecuencia de estornudo (Cuadro1).

Cuadro 1: metodologías para el registro de estornudos.

	Estornudo	
Presencia y Ausencia	0-1	Pomorska-Mól <i>et al.</i> , 2013; Pósa <i>et al.</i> , 2011
Frecuencia	$\frac{\text{N}^\circ \text{ animales con estornudo}}{\text{animales observados}} \times 100$	Parada <i>et al.</i> , 2010; Rose <i>et al.</i> , 2013; Dalla Costa <i>et al.</i> , 2008

### 1.6.- Importancia de los protocolos clínicos

Para lograr obtener datos válidos y con alto nivel de repetitividad en la clinimetría, los protocolos estandarizados son importantes tanto para la investigación como la práctica veterinaria. Diversos estudios donde se emplean protocolos para evaluar los signos clínicos indican que estos son subjetivos y se ha informado variación entre observadores (Baadsgaard y Jørgensen, 2003). En general, en estos trabajos el registro de signos clínicos se basa en un sistema binario (presencia-ausencia) o registran la gravedad del signo presente como los que se describen a continuación.

Como ejemplo de estos estudios, tenemos los registros de condición corporal, lesiones de piel, signos nerviosos, claudicaciones, signos respiratorios y signos digestivos en cerdos de cría. Estos registros se realizan a través de protocolos para determinar si los mismos están presentes, edad donde están presentes y la gravedad de los mismos. El protocolo fue empleado por cuatro observadores (médicos veterinarios) capacitados, quienes registran los signos clínicos de manera conjunta durante 30 a 40 segundos por cerdo, obteniendo como resultado diferencias significativas entre los observadores, para el registro de todos los signos clínicos excepto en las claudicaciones y signos nerviosos (Baadsgaard y Jørgensen, 2003).

Por otro lado, se describen protocolos para el registro de claudicación, hernia umbilical, mordedura de cola, y heridas, donde se determinó presencia y ausencia de estos signos en cerdos de terminación. En ese caso se utiliza cuatro observadores, los mismos eran veterinarios técnicos en calidad de carne y capacitados para trabajar en piaras libres de patógenos específicos, los observadores inspeccionaron los mismos corrales pero en distintos momentos, concluyendo que

el acuerdo entre observadores a nivel del corral, difiere para los diferentes signos clínicos encontrando un justo a moderado acuerdo por la claudicación, un buen acuerdo se encontró para la hernia umbilical y mordedura de cola. (Petersen *et al.*, 2002; Petersen *et al.*, 2004),

De manera similar, Thomsen *et al.*, 2006, describen un protocolo para el registro de lesiones de patas en vacas lecheras, clasificándolas en primer medida en enfermas y sanas, para esto establece un protocolo definido donde describe para cada signo clínico (cojeras y lesiones cutáneas) la escala a valorar, en este estudio capacita a cinco observadores con distintos grados de experiencia, con el objetivo de obtener acuerdo entre los mismos. Para este caso los cinco observadores examinan el mismo animal durante 1 a 2 minutos, obteniendo de esta manera diferencias considerables en la clasificación.

Dentro de esta búsqueda bibliográfica se encuentra a Pedersen *et al.*, (2011) quienes trabajan con caracterización de la consistencia de materia fecal en cerdos de 12 y 13 semanas de edad, registrado por tres observadores (médicos veterinarios con experiencia en cerdos). En este caso no todos los observadores examinaron las mismas muestras, obteniendo como resultado un acuerdo sustancial entre los observadores 1 y 3, por el contrario, sólo se observó un moderado acuerdo entre el observador 1 y el observador 2.

Si tenemos en cuenta todo lo descrito, los protocolos se utilizan principalmente en la investigación donde es más fácil detectar los errores de medición utilizando mediciones repetidas y analizándolas en un gráfico de dispersión de mediciones repetidas. Por lo tanto, los requisitos de calidad para mediciones en la práctica deben ser más altos que para la investigación (De Vet *et al.*, 2003). Siendo importante crear conciencia sobre este tema, y ofrecer soluciones prácticas para mejorar la calidad de las mediciones en la práctica diaria de los veterinarios encargados de las granjas, a través de metodologías que sean fáciles de emplear y que sobre todo se describan detalladamente para que las mismas puedan ser repetidas y reproducibles (Baadsgaard y Jørgensen, 2003).

En esta búsqueda bibliográfica del cuadro 1, no se encontraron protocolos bien detallados para poder realizar la cuantificación de los signos respiratorios de las vías aéreas superiores como el estornudo, por lo que las comparaciones entre los diversos estudios respiratorios siguen siendo difíciles de lograr.

## **2.- HIPOTESIS Y OBJETIVOS**

### **2.1.- Hipótesis**

El uso de un protocolo clinimétrico detallado para el registro de estornudos en cerdos de distintas edades de la etapa de recría permite lograr una cuantificación adecuada de dicho signo clínico.

### **2.2.- Objetivo general**

Desarrollar, aplicar y evaluar un protocolo específico para el registro de estornudos en cerdos de distintas edades de la etapa de recría,

### **2.3.- Objetivos específicos**

2.3.1.-Determinar la proporción de estornudos en cerdos de diferentes edades de la etapa de recría.

2.3.2.-Adaptar un índice de estornudos y aplicarlo en cerdos de diferentes edades de la etapa de recría para cuantificar dicho signo clínico.

2.3.3.-Determinar la cantidad de veces que cerdos de diferentes edades de la etapa de recría deben ser estimulados para poder determinar la proporción y el índice de estornudos.

2.3.4.-Determinar el nivel de congruencia entre observadores en la aplicación de un protocolo detallado para determinar la proporción y el índice de estornudos en cerdos de diferentes edades de la etapa de recría.

### 3.- MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1.- Establecimientos

Se trabajó en tres granjas (A, B y C) próximas a nuestra unidad de investigación, que reunían las siguientes características de instalaciones y manejo: granjas parto-terminación, confinadas, con manejo todo adentro/todo afuera, que cada sala de recria tuviera más de un corral, medidas de bioseguridad y que nos permitieran realizar nuestro trabajo por 4 meses. De esta manera las granjas reunían las condiciones y nos permitieron llevar adelante este proyecto fueron:

La granja A (Foto 1) contaba con 1200 madres aproximadamente, el objetivo de esta granja era producir hembras F1 para venta como cachorras de reposición; la granja B (Foto 2) contaba con 500 madres, aproximadamente, cuyo objetivo era la producción de porcinos para consumo, la granja C (Foto 3) poseía alrededor de 700 madres y el objetivo es la producción de porcinos para consumo.

Foto 1: Imagen aérea de la granja A.



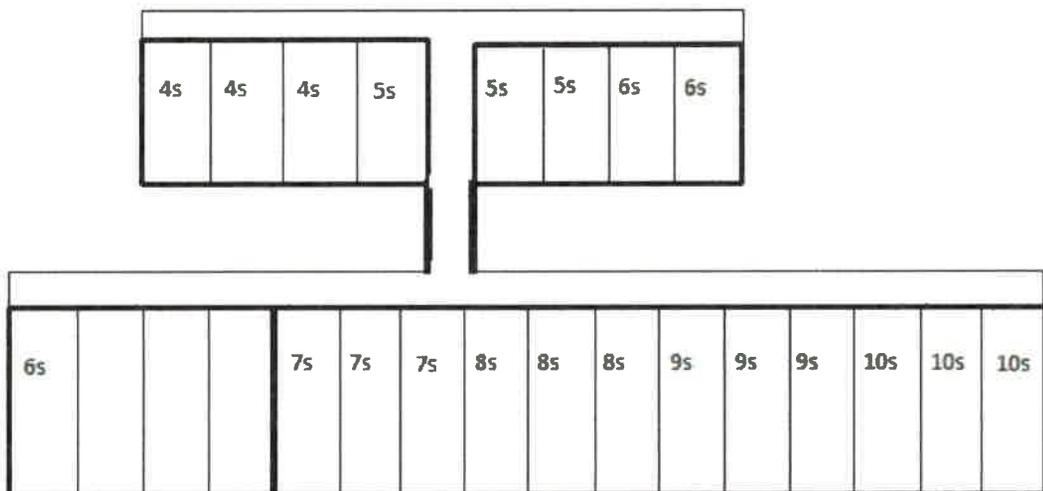
La granja A está tiene el sitio I constituido por tres galpones con cerdas en gestación y un galpón para cachorras, todas alojadas en jaulas individuales. El galpón de maternidad, estaba

separado a unos 10 metros del galpón de gestación. Se desteta con una edad promedio de los lechones de 20,5 días. Todos los destetados fueron trasladados al Sitio II.

El Sitio II (Esquema 1) cuenta con dos galpones: el primer galpón de destete contiene ocho salas, con pisos 100% slat de plástico, sobre-elevados. Aquí se alojan los lechones entre los 20 y los 45 días de vida, cada semana de destete se divide en tres salas con 220 animales cada una, de la siguiente manera; machos (cabeza), hembras (cuerpo), machos y hembras de menor tamaño (cola) aquí permanecen hasta los 45 días de edad para luego ser trasladados al segundo galpón.

El segundo galpón cuenta con 16 salas, cuatro de estas se utilizan para alojar los animales de destete hasta los 45 días de edad, y las 12 salas restantes se utilizan como una recría para alojar animales desde los 45 hasta los 69 días de edad, las mismas poseen piso 100% slat y sistema de ventilación automático.

Esquema 1: Galpones de destete y recría de la granja A.



El Sitio III cuenta con 12 galpones, siete con pasillo central y cinco galpones con pasillo lateral. Aquí se alojan los animales entre los 70 y 170 días de vida, el manejo de los animales seguía siendo el mismo que en el sitio II, manteniendo los mismos grupos de animales cabeza (machos), cuerpo (hembra) y cola (machos y hembras).

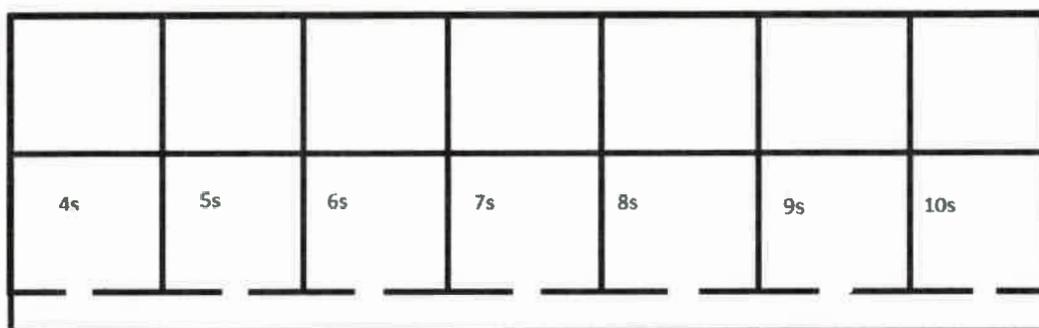
Foto 2: Imagen aérea de la granja B



La granja B cuenta con un galpón de gestación con cuatro filas de jaulas individuales. Un galpón de maternidad con cuatro salas de parto, este galpón se encuentra separado a unos 10 metros aproximadamente del galpón de gestación. Se desteta una sala por semana, con una edad promedio de 21,5 días de vida de los lechones, los cuales son trasladados al Sitio II.

La recría (Esquema 2) consta de un galpón continuado al de maternidad, con siete salas, con pisos 100% slat de plástico sobre-elevados, con sistema de ventilación automático. Aquí se alojan los lechones entre los 21,5 y los 68 días de vida, cada semana de destete es dividida en dos corrales con 160 animales cada uno aproximadamente, los animales eran divididos de la siguiente manera: machos y hembras de mayor tamaño (cabeza), machos y hembras de menor tamaño (cola).

Esquema 2: Galpón de recría granja B.



El engorde cuenta con seis galpones, con pasillo central y 24 corrales, el piso es 100% slat de cemento. Aquí se alojan los animales entre los 70 y 170 días de vida, en 8 corrales enfrentados, cada galpón podía alojar a tres semanas de producción, por lo que el manejo de los animales consistía en seguir manteniendo los grupos por tamaño de animales (cabeza y cola de producción).

Foto 3: Imagen aérea de la granja C

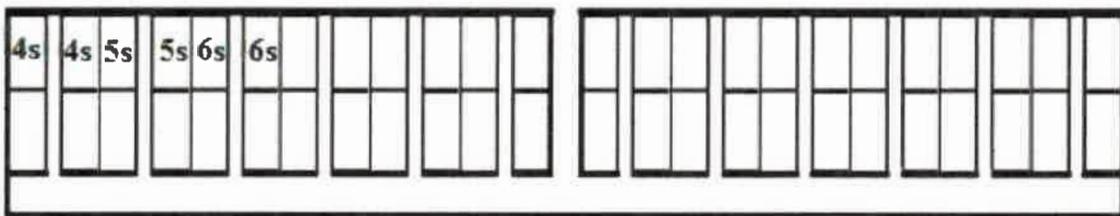


La granja C cuenta con dos galpones de gestación con cuatro filas de jaulas individuales. Un galpón de maternidad el cual se encuentra separado unos 15 metros aproximadamente del

galpón de gestación. Se destetaba una vez a la semana con una edad promedio de 20 días de vida de los lechones, los cuales posteriormente eran trasladados a Sitio II.

La recría (Esquema 3) cuenta con 13 salas y cada una de ellas separada en cuatro corrales con un pasillo central de cemento, los corrales con pisos 100% slat sobre-elevados, con sistema de ventilación automático. Aquí se alojan los lechones entre los 21 y los 68 días de vida, cada semana de destete era dividida en 4 corrales por sala, un total de 320 lechones aproximadamente, los animales eran divididos en cabeza, cuerpo y cola de producción.

Esquema 3: Galpón de recría granja C.



El engorde cuenta con cinco galpones, cada uno con pasillo central, piso 100% slat de cemento. Aquí se alojaban los animales entre los 70 y 160 días de vida, manteniendo los grupos por tamaño (cabeza, cuerpo y cola de producción), cada galpón permitía alojar dos semanas de producción.

### 3.2.- Definiciones de los parámetros clínicos a registrar

-Estornudo: inspiración brusca, involuntaria y repentina seguida de una emisión estrepitosa y violenta del aire de los pulmones expulsado por la nariz. En otras palabras un estornudo se caracteriza por una espiración explosiva sólo después de una profunda inspiración (Al Suleimani et al., 2007; Lappin, 2001).

$$\text{Proporción de cerdos con estornudo} = \frac{\text{Número de animales con estornudo}}{\text{Número de animales observados}} \times 100$$

-Eventos de estornudo: definido como un episodio de estornudo o como un conjunto de episodios de estornudos producidos por un animal o un conjunto de animales, separado de otro

por un silencio de 10 segundos. Basados en la propuesta por Banson (1993) y empleado por Nathues et al., (2012), para el índice de tos.

$$\text{Índice de Estornudo} = \frac{\text{total de eventos de estornudos}}{(\text{Número de animales observados} \times \text{tiempo de observación})} \times 100$$

### **3.3.- Capacitación de expertos**

Antes de comenzar el estudio, se capacitó de manera teórico-práctica, a dos médicos veterinarios (experto 2 y 3) con antecedentes en producción porcina, en la capacitación se explicó y definió el signo de estornudo y cuál es un evento de estornudo; cómo se debía medir cada uno y la forma de registrarlo en las planillas. Además, de manera práctica se realizaron entrenamientos sobre como ingresar a las salas o corrales y la forma de realizar los estímulos. Toda esta actividad se desarrolló en 3 jornadas de 4hs. cada una.

### **3.4.- Diseño del estudio**

#### **3.4.1.- Estudio de cortes transversal**

En cada una de las granjas se realizaron cuatro visitas, con 15 días de intervalo entre ellas, con el objeto de registrar la proporción de animales con estornudo e índice de estornudo en las planillas diseñadas, y además, aumentar el número de repeticiones en el análisis (Esquema 4). Para ello, se ingresó en cada corral (unidad de análisis) de los animales de 4, 6, 8 y 10 semanas de edad, para obtener cuatro estudios de corte transversal para cada granja.

#### **3.4.2.- Protocolo para el registro de parámetros clinimétricos.**

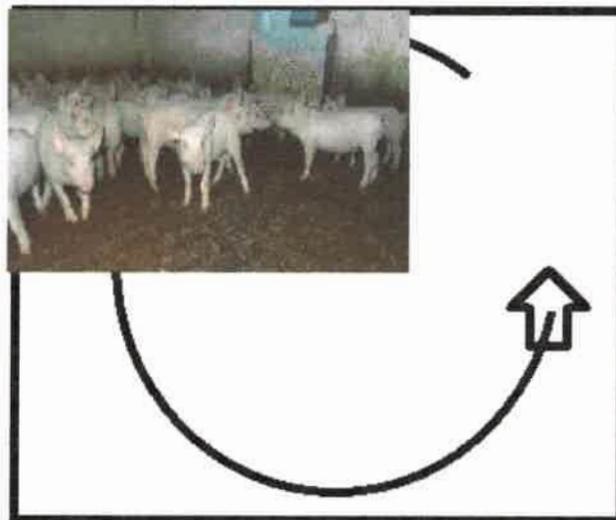
Cada vez que se ingresó a las granjas se cumplió con todas las medidas de bioseguridad que exigió la empresa, al ingresar se le solicitó al responsable del establecimiento (encargado de la granja) una planilla con la ubicación, edad y cantidad de animales presentes en la recría. Antes de ingresar a las salas se corroboró si los datos de las planillas aportadas por el encargado eran iguales a las que figuraban en las salas.

Luego ingresaron los 3 expertos para observar y registrar en animales de 4, 6, 8 y 10 semanas de edad (respetando ese orden), la cantidad de cerdos con signos clínicos de estornudo y cantidad de eventos de estornudo.

Medición sin estímulo: El ingreso se realizó con tranquilidad (evitando que los animales se asusten), comenzando por el corral o sala donde estaban presente los animales de menor tamaño (cola de producción), una vez que se ingresó al corral se procedió a ubicarse en el extremo de la mediana del mismo de manera de poder observar la totalidad de los animales presente, cada uno de los expertos se ubicó de esta manera, una vez ubicados siempre con tranquilidad y por un período de 3 minutos, se procedió a llenar la planilla de la columna sin estímulo (esquema 4).

1º Estímulo: Se procedió a movilizar los animales mediante estímulos auditivos (gritos y aplausos) durante 30 segundos (Maes *et al.*, 1999; Laohasinnarong *et al.*, 2008). Siendo el estímulo realizado de la siguiente manera: el operador se colocó en un extremo del corral y procedió a caminar arreando los animales con los estímulos auditivos, de esta manera se hace caminar los animales por todo el corral, logrando que el movimiento sea continuo durante los 30 segundos, para esto se empleó un cronómetro digital (foto 4).

Foto 4: Estimulo de los animales



Terminado el estímulo, se procedió a contar y registrar por 3 minutos, los mismos parámetros que en el anterior, en la planilla columna correspondiente al 1° conteo.

2° Estímulo: terminado el primer conteo, se procedió a esperar un minuto para que los animales entrara en reposo, para luego poder realizar el estímulo dos, la misma manera, movimiento de 30 segundos y conteo de 3 minutos, registrando los datos en la planilla (Esquema 4) en la columna correspondiente al 2° conteo

Esquema 4: Planilla para el registro de parámetros clínicos

Planilla de clinimetría de estornudo						
Establecimiento:		Fecha:			Edad	
Sala N°:	Corral N°:	N° Animales observados:				
	Sin Estimulo		N°		N°	
			Corral 1		Corral 2	
	Corral 1	Corral 2	1° conteo	2° Conteo	1° conteo	2 <sup>a</sup> conteo
1- N° animales con Estornudo						
2- Eventos de Estornudo						
Sala N°:		Corral N°:			N° Animales observados:	
	Sin Estimulo		N°		N°	
			Corral 3		Corral 4	
	Corra 3	Corral 4	1° conteo	2° conteo	1° conteo	2° conteo
1- N° animales con Estornudo						
2- Eventos de Estornudo						

### 3.5.- Análisis estadístico

Cuando en las planillas aparecía el número cero, se consideraba ausencia de estornudo, caso contrario se contabilizaba como presencia.

Para obtener el acuerdo entre los observadores en la detección de la presencia del estornudo como así también eventos de estornudo se utilizó el estadístico Kappa de Cohen. Para la interpretación se utilizaron las categorías propuestas por López de Ullibarri y Fernández (1999), este análisis fue realizado a través de EPIDAT 4.1. Además para la comparación de los valores registrados por los tres observadores para el índice de estornudo como variable continua se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson (PROC CORR).

Se compararon el Índice de estornudo y Proporción de animales con estornudo (PROC MEANS) para las variables granjas (n= 3), corral (n= 4), observadores (n= 3), edad de cerdos (4, 6, 8 y 10 semanas), tipo de estímulo (0, 1 y 2). Se tomó como unidad tanto para el índice de estornudo como para la proporción de animales con estornudo, el registro realizado por corral, por estímulo, visita y por cada observador.

#### Análisis multivariado

Debido a que los datos del Índice de estornudos y porcentaje de animales con estornudo eran sesgados, no siguiendo una distribución normal, las variables fueron transformadas utilizando el logaritmo natural para ajustar al modelo de regresión. Las medias de mínimos cuadrados se obtuvieron para la variable respuesta porcentaje de animales con estornudo re transformando los estimadores. El modelo mixto ajustado consistió en un modelo jerárquico donde la granja fue modelada como efecto aleatorio (PROC MIXED). Corrales, observadores, edad de cerdos en semanas, número de visitas y tipo de estímulo fueron modelados como efectos fijos.

El modelo ajustado fue el siguiente  $Y_i = \beta'Z_i + b_i'W_i + \epsilon_i$ . La variable respuesta  $Y_{ij}$  fue el porcentaje de animales con estornudo para la granja  $i$ . El primer componente de varianza, la granja ( $b_i$ ) describe la variación entre granjas, mientras que el segundo componente ( $\epsilon_i$ ) corresponde a la varianza residual. Los términos  $Z$  y  $W$  son los vectores de las covariables para los efectos fijos y aleatorios, respectivamente. El término  $\beta$  es el vector de efectos fijos desconocidos, y  $b_i$  es el vector de efectos aleatorios para las granjas,  $\epsilon_i$  es el error de medición.

Todos los análisis fueron realizados en SAS versión 9.0 (SAS Institute, Cary, Carolina del Norte, EEUU).

## **4.- RESULTADOS**

Se muestran los resultados obtenidos por cada observador en cada visita, con los datos de la proporción de animales con estornudo y del índice de estornudo (eventos de estornudo).

De esta forma se llenaron 144 planillas, las cuales son el instrumento de medición para este trabajo, que nos permite observar la funcionalidad de la misma, probada con 0, 1 y 2 estímulos, pero no solo para presencia y ausencia, sino también categoriza de manera cuantitativa el reflejo de estornudo.

### **4.1.- Proporción de animales con estornudo e índice de estornudo en las distintas edades**

#### **4.1.1.- Proporción e índice de estornudo a las 4 semanas de edad**

En las tablas 1, 2 y 3 se observan las diferencias que existen en cada granja, a las 4 semanas de edad, para la proporción de animales con estornudo e índice de estornudo, así como la semejanza entre los corrales de la misma granja. En la granja A y B (tabla 1 y 2) el estornudo está prácticamente ausente con valores promedios de 0 a 1% y 0 a 2% respectivamente, en el total de los corrales. Sin embargo los resultados obtenidos para la granja C muestran que el estornudo estuvo presente en porcentajes más altos, de 6 al 20% promedio, si lo comparamos con la granja A y B. Con respecto a los cuatro corrales también se observan semejanzas dentro de la misma granja, independientes del observador que lo registró.

Para el índice de estornudo a las 4 semanas de edad se pudo observar que para las granjas A y B se detectaron valores bajos, con promedio de 0,1 a 0,2% y 0,1 a 0,4% por corral y observador respectivamente. A diferencia de la granja C donde el promedio fue de 1,5% (0,9 a 1,8%) por corral y de 1,6% promedio entre observadores.

Tabla 1: Resultados obtenidos a las 4 semanas de edad en la granja A, con la proporción de animales con estornudo e índice de estornudos, para los 3 observadores, por corral y por estímulo. Cada valor de porcentaje representa el promedio obtenido en las cuatro visitas.

Corrales		Corral 1			Corral 2			Corral 3			
Estímulos		0	1	2	0	1	2	0	1	2	Prom
Proporción de animales	Ob 1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1
	Ob 2	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1
	Ob 3	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0,2
	Prom	1	0	0	0	1	0	0	1	1	
Índice	Ob1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,2	0,0	0,1
	Ob2	0,1	0,1	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,2	0,1	0,1
	Ob3	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,2	0,2	0,1
	Prom	0,2	0,1	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,2	0,1	

Tabla 2: Resultados obtenidos a las 4 semanas de edad en la granja B, con la proporción de animales con estornudo e índice de estornudos, para los 3 observadores, por corral y por estímulo. Cada valor de porcentaje representa el promedio obtenido en las cuatro visitas.

Corrales		Corral 1			Corral 2			
Estímulos		0	1	2	0	1	2	Prom
Proporción de animales	Ob 1	2	2	1	1	1	0	1,1
	Ob 2	2	1	1	1	0	1	1
	Ob 3	1	1	1	1	0	0	0,6
	Prom	2	1	1	1	0	0	
Índice	Ob1	0,3	0,6	0,5	0,4	0,2	0,1	0,3
	Ob2	0,4	0,4	0,4	0,4	0,1	0,2	0,3
	Ob3	0,2	0,4	0,3	0,3	0,1	0,1	0,2
	Prom	0,3	0,4	0,4	0,3	0,1	0,1	

Tabla 3: Resultados obtenidos a las 4 semanas de edad en la granja C, con la proporción de animales con estornudo e índice de estornudos, para los 3 observadores, por corral y por estímulo. Cada valor de porcentaje representa el promedio obtenido en las cuatro visitas.

Corrales		Corral 1			Corral 2			Corral 3			Corral 4			
Estímulos		0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	Prom
Proporción de animales	Ob 1	9	23	15	8	16	21	11	19	16	7	7	12	<b>13,6</b>
	Ob 2	8	19	9	8	20	26	13	18	14	8	10	17	<b>14,1</b>
	Ob 3	5	17	6	6	11	14	3	12	10	4	6	10	<b>8,6</b>
	Prom	<b>7</b>	<b>19</b>	<b>10</b>	<b>8</b>	<b>16</b>	<b>20</b>	<b>9</b>	<b>16</b>	<b>13</b>	<b>6</b>	<b>8</b>	<b>13</b>	
Índice	Ob1	1,7	1,6	1,3	1,9	1,6	1,7	1,8	1,9	1,5	1,5	0,9	1,6	<b>1,6</b>
	Ob2	1,7	1,3	1,6	1,4	1,5	1,5	1,7	1,9	1,7	1,3	0,9	1,2	<b>1,5</b>
	Ob3	1,0	1,7	1,2	1,9	2,1	2,2	0,9	1,6	1,9	1,2	0,8	2,1	<b>1,6</b>
	Prom	<b>1,5</b>	<b>1,5</b>	<b>1,4</b>	<b>1,8</b>	<b>1,7</b>	<b>1,8</b>	<b>1,5</b>	<b>1,8</b>	<b>1,7</b>	<b>1,3</b>	<b>0,9</b>	<b>1,6</b>	

#### 4.1.2.- Proporción e índice de estornudos a las 6 semanas de edad

En la tabla 4, 5 y 6, se expresan los resultados a las 6 semanas de edad, en la granja A, B y C respectivamente. Para la granja A se puede apreciar que los valores registrados para la proporción de animales con estornudo fueron entre 6 al 11% promedios por corral y de 7,81 al 9,27% entre los observadores, de manera similar la granja B presento valores entre 5 y 6% tanto para los corrales como para los observadores. Para la granja C los valores registrados estuvieron entre el 16 y 25% para los corrales y entre el 17 y 25% entre los observadores, registrando en esta edad valores superiores a los registrados a las 4 semanas de edad.

Con respecto a los resultados del índice de estornudo que se representan en estas tablas, se obtuvo como resultado en la granja A un promedio de 0,6% (de 0,5 a 0,7% entre los corrales) y de 0,5 a 0,8% entre los observadores, de manera similar se obtuvo un 0,8% promedio en la granja B (valores de 0,7 y 0,9%) entre los corrales y observadores, sin embargo la granja C el promedio fue de 2,1% (1,9 a 2,2%) entre los corrales, mientras que para los observadores los valores estuvieron entre 1,8 y 2,4%, siendo estos superiores a los obtenidos para las granjas A y B.

Tabla 4: Resultados obtenidos a las 6 semanas de edad en la granja A, con la proporción de animales con estornudo e índice de estornudos, para los 3 observadores, por corral y por estímulo. Cada valor de porcentaje representa el promedio obtenido en las cuatro visitas.

Corrales		Corral 1			Corral 2			Corral 3			
Estímulos		0	1	2	0	1	2	0	1	2	
Proporción de animales	Ob 1	6	7	7	4	11	13	5	10	8	<b>7,81</b>
	Ob 2	4	7	6	5	14	16	6	13	12	<b>9,27</b>
	Ob 3	3	7	7	4	13	16	7	10	9	<b>8,57</b>
	Prom	<b>5</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>13</b>	<b>15</b>	<b>6</b>	<b>11</b>	<b>10</b>	
Índice	Ob1	0,5	0,3	0,3	0,6	0,8	0,5	0,5	0,7	0,8	<b>0,6</b>
	Ob2	0,5	0,4	0,4	0,6	0,6	0,4	0,6	0,6	0,6	<b>0,5</b>
	Ob3	0,5	0,8	0,7	0,6	1,1	0,7	0,6	0,7	1,0	<b>0,8</b>
	Prom	<b>0,5</b>	<b>0,5</b>	<b>0,5</b>	<b>0,6</b>	<b>0,8</b>	<b>0,6</b>	<b>0,6</b>	<b>0,7</b>	<b>0,8</b>	

Tabla 5: Resultados obtenidos a las 6 semanas de edad en la granja B, con la proporción de animales con estornudo e índice de estornudos, para los 3 observadores, por corral y por estímulo. Cada valor de porcentaje representa el promedio obtenido en las cuatro visitas.

Corrales		Corral 1			Corral 2			
Estímulos		0	1	2	0	1	2	<b>Prom</b>
Proporción de animales	Ob 1	7	6	5	4	6	5	<b>5,5</b>
	Ob 2	6	5	6	4	7	5	<b>5,5</b>
	Ob 3	5	6	6	5	5	5	<b>5,3</b>
	Prom	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	
Índice	Ob1	1,0	1,2	0,7	0,6	0,7	0,9	<b>0,9</b>
	Ob2	0,9	0,8	0,7	0,6	0,6	0,6	<b>0,7</b>
	Ob3	0,8	0,9	0,8	0,8	0,7	0,9	<b>0,8</b>
	Prom	<b>0,9</b>	<b>1,0</b>	<b>0,7</b>	<b>0,7</b>	<b>0,7</b>	<b>0,8</b>	

Tabla 6: Resultados obtenidos a las 6 semanas de edad en la granja C, con la proporción de animales con estornudo e índice de estornudos, para los 3 observadores, por corral y por estímulo. Cada valor de porcentaje representa el promedio obtenido en las cuatro visitas.

Corrales		Corral 1			Corral 2			Corral 3			Corral 4			
Estímulos		0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	Prom
Proporción de animales	Ob 1	21	30	23	13	24	29	13	20	21	12	18	21	<b>20,4</b>
	Ob 2	31	28	34	17	34	37	14	23	25	10	21	20	<b>24,5</b>
	Ob 3	20	21	21	11	24	26	10	16	15	11	19	14	<b>17,3</b>
	Prom	<b>24</b>	<b>26</b>	<b>26</b>	<b>13</b>	<b>27</b>	<b>30</b>	<b>12</b>	<b>20</b>	<b>20</b>	<b>11</b>	<b>19</b>	<b>18</b>	
Índice	Ob1	1,7	2,1	2,5	2,5	2,3	2,3	2,1	1,4	2,2	2,0	2,1	2,8	<b>2,2</b>
	Ob2	2,0	1,7	1,7	2,1	1,8	1,7	2,4	1,4	1,2	1,5	2,6	1,8	<b>1,8</b>
	Ob3	2,4	2,6	3,1	2,0	2,9	2,6	2,3	1,7	2,3	1,7	2,9	2,5	<b>2,4</b>
	Prom	<b>2,0</b>	<b>2,1</b>	<b>2,4</b>	<b>2,2</b>	<b>2,3</b>	<b>2,2</b>	<b>2,3</b>	<b>1,5</b>	<b>1,9</b>	<b>1,7</b>	<b>2,6</b>	<b>2,4</b>	

#### 4.1.3.- Proporción e índice de estornudo para las 8 y 10 semanas de edad

Para las 8 semanas de edad los resultados se expresan en las tablas 7, 8, 9, para las granjas A, B y C respectivamente. Los valores promedios de la proporción de animales con estornudo de la granja A fueron del 24% (entre 14 a 30%) para los corrales observados. En la granja B se registra valores promedios de 11 y 14% y para la granja C los valores de la proporción de animales con estornudo promedio rondaron entre el 14 y 22%.

Para el índice de estornudo registrado en la granja A se obtuvieron valores promedios de 0,6% (0,4 a 0,8%) valores similares se registraron para la granja B, promedio de 0,9% (0,6 a 1,1%). Sin embargo la granja C se obtuvo un promedio de 2,5% (1,8 a 2,9%) siendo los más altos entre las granjas.

Para las 10 semanas de edad los resultados se expresan en las tablas 10, 11 y 12 para las granjas A, B y C respectivamente. Para la proporción de animales con estornudo obtenidos en

la granja A se registra un promedio de 13% (6 al 20%), la granja B presenta un valor promedio de 6% (3 y 11%) mientras que para la granja C registro un promedio 13% (9 y 17%)

Sin embargo el índice de estornudo que se registró para las granjas A y B mostraron valores promedios de 1,6% y 1,9%, mientras que para la granja C presenta un valores del índice de 2% coincidiendo esta granja los mayores valores de proporción de animales con estornudo e índice de estornudo.

Tabla 7: Resultados obtenidos a las 8 semanas de edad en la granja A, con la proporción de animales con estornudo e índice de estornudos, para los 3 observadores, por corral y por estímulo. Cada valor de porcentaje representa el promedio obtenido en las cuatro visitas.

Corrales		Corral 1			Corral 2			Corral 3			
Estímulos		0	1	2	0	1	2	0	1	2	Prom
Proporción de animales	Ob 1	19	29	27	15	28	23	10	28	22	<b>22</b>
	Ob 2	24	28	24	19	27	24	16	29	25	<b>24</b>
	Ob 3	27	33	27	27	30	22	16	28	23	<b>26</b>
	Prom	<b>23</b>	<b>30</b>	<b>26</b>	<b>20</b>	<b>28</b>	<b>23</b>	<b>14</b>	<b>28</b>	<b>24</b>	
Índice	Ob1	0,7	0,5	0,5	0,8	0,5	0,8	1,0	0,5	0,9	<b>0,7</b>
	Ob2	0,5	0,3	0,4	0,5	0,3	0,3	0,4	0,2	0,3	<b>0,3</b>
	Ob3	0,6	0,5	0,5	0,9	0,7	0,7	1,0	0,4	0,9	<b>0,7</b>
	Prom	<b>0,6</b>	<b>0,4</b>	<b>0,5</b>	<b>0,7</b>	<b>0,5</b>	<b>0,6</b>	<b>0,8</b>	<b>0,4</b>	<b>0,7</b>	

Tabla 8: Resultados obtenidos a las 8 semanas de edad en la granja B, con la proporción de animales con estornudo e índice de estornudos, para los 3 observadores, por corral y por estímulo. Cada valor de porcentaje representa el promedio obtenido en las cuatro visitas.

Corrales		Corral 1			Corral 2			
Estímulos		0	1	2	0	1	2	Prom
Proporción de animales	Ob 1	0	25	19	8	13	14	13
	Ob 2	0	29	21	9	12	12	14
	Ob 3	0	19	14	9	12	9	10
	Prom	0	24	18	8	12	12	
Índice	Ob1	0,5	0,5	0,7	1,2	0,9	1,1	0,8
	Ob2	0,7	0,5	0,7	0,9	0,7	0,7	0,7
	Ob3	1,4	0,9	1,3	1,1	1,3	1,3	1,2
	Prom	0,9	0,6	0,9	1,1	1,0	1,0	

Tabla 9: Resultados obtenidos a las 8 semanas de edad en la granja C, con la proporción de animales con estornudo e índice de estornudos, para los 3 observadores, por corral y por estímulo. Cada valor de porcentaje representa el promedio obtenido en las cuatro visitas.

Corrales		Corral 1			Corral 2			Corral 3			Corral 4			
Estímulos		0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	Prom
Proporción de animales	Ob 1	19	22	19	8	18	21	15	19	19	9	17	21	17
	Ob 2	26	31	25	12	21	22	15	21	22	9	17	19	20
	Ob 3	19	23	16	11	19	21	11	14	16	8	13	17	16
	Prom	21	25	20	10	19	21	14	18	19	8	15	19	
Índice	Ob1	2,1	1,8	2,6	1,7	2,3	2,6	3,1	2,8	2,9	1,8	2,9	2,9	2,5
	Ob2	2,4	2,3	2,0	2,0	2,1	2,1	2,4	2,5	2,3	1,7	2,6	1,8	2,2
	Ob3	2,8	2,6	3,2	2,0	2,6	2,9	2,1	2,9	3,2	1,8	3,1	3,1	2,7
	Prom	2,4	2,2	2,6	1,9	2,3	2,5	2,5	2,7	2,8	1,8	2,9	2,6	

Tabla 10: Resultados obtenidos a las 10 semanas de edad en la granja A, con la proporción de animales con estornudo e índice de estornudos, para los 3 observadores, por corral y por estímulo. Cada valor de porcentaje representa el promedio obtenido en las cuatro visitas.

Corrales		Corral 1			Corral 2			Corral 3			
Estímulos		0	1	2	0	1	2	0	1	2	Prom
Proporción de animales	Ob 1	11	18	15	8	13	11	7	11	11	12
	Ob 2	22	22	17	11	15	15	6	13	11	15
	Ob 3	15	20	16	8	12	11	6	9	6	11
	Prom	16	20	16	9	13	12	6	11	10	
Índice	Ob1	1,6	1,5	1,4	1,8	1,5	1,4	1,6	2,5	1,6	1,6
	Ob2	1,4	1,3	0,9	1,7	1,3	1,3	1,6	1,8	1,6	1,4
	Ob3	1,6	1,4	1,3	2,1	1,6	1,2	1,6	2,4	1,6	1,6
	Prom	1,5	1,4	1,2	1,9	1,5	1,3	1,6	2,2	1,6	

Tabla 11: Resultados obtenidos a las 10 semanas de edad en la granja B, con la proporción de animales con estornudo e índice de estornudos, para los 3 observadores, por corral y por estímulo. Cada valor de porcentaje representa el promedio obtenido en las cuatro visitas.

Corrales		Corral 1			Corral 2			
Estímulos		0	1	2	0	1	2	Prom
Proporción de animales	Ob 1	10	8	4	7	4	8	7
	Ob 2	11	9	4	8	3	9	7
	Ob 3	12	6	3	7	3	8	6
	Prom	11	7	4	7	3	8	
Índice	Ob1	2,6	1,8	1,0	2,1	1,3	2,6	1,9
	Ob2	2,6	2,0	1,3	2,1	1,0	2,6	1,9
	Ob3	3,6	1,8	1,2	2,3	0,8	2,1	2,0
	Prom	2,9	1,9	1,2	2,2	1,0	2,4	

Tabla 12: Resultados obtenidos a las 10 semanas de edad en la granja C, con la proporción de animales con estornudo e índice de estornudos, para los 3 observadores, por corral y por estímulo. Cada valor de porcentaje representa el promedio obtenido en las cuatro visitas.

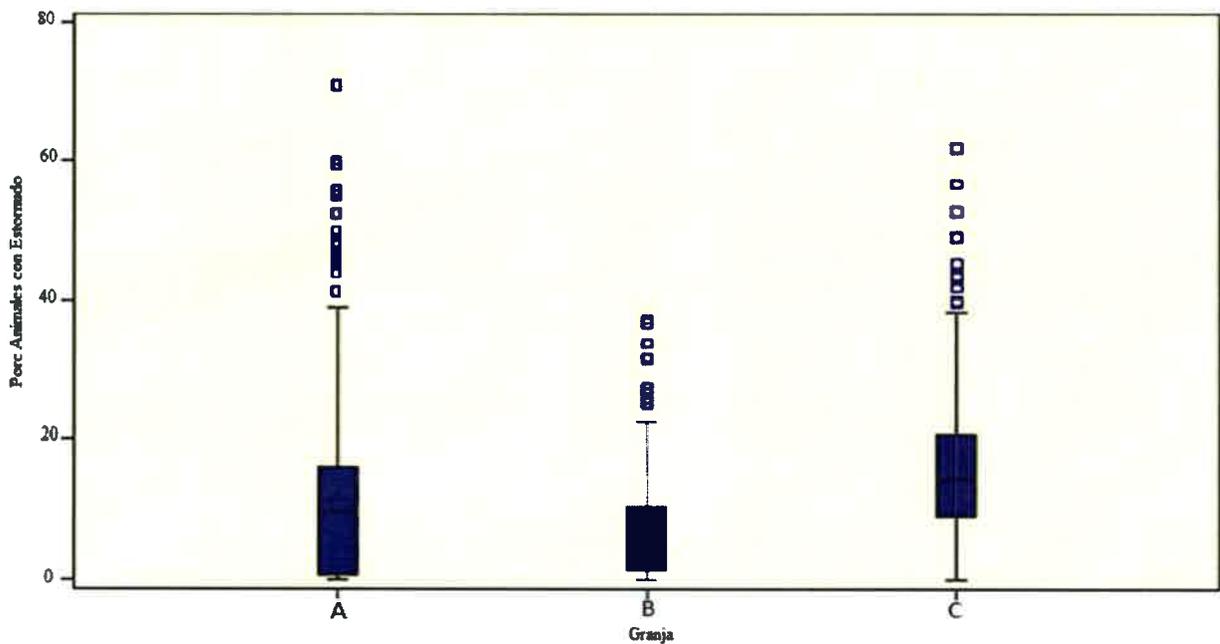
Corrales		Corral 1			Corral 2			Corral 3			Corral 4			
Estímulos		0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	Prom
Proporción de animales	Ob 1	11	13	13	12	18	18	7	17	20	8	8	13	<b>13</b>
	Ob 2	11	14	12	10	19	19	7	14	20	11	10	14	<b>13</b>
	Ob 3	11	9	11	8	14	13	6	12	17	8	8	12	<b>11</b>
	<b>Prom</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>12</b>	<b>10</b>	<b>17</b>	<b>17</b>	<b>7</b>	<b>14</b>	<b>19</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>13</b>	
Índice	Ob1	2,5	1,9	2,0	2,6	2,9	2,4	1,4	2,6	2,5	1,8	1,9	2,5	<b>2,3</b>
	Ob2	2,0	1,6	1,8	1,7	2,0	2,0	1,6	2,1	2,0	1,8	1,9	2,3	<b>1,9</b>
	Ob3	2,6	1,6	2,2	1,9	2,5	3,0	1,3	2,1	2,6	2,0	1,8	2,5	<b>2,2</b>
	<b>Prom</b>	<b>2,4</b>	<b>1,7</b>	<b>2,0</b>	<b>2,1</b>	<b>2,4</b>	<b>2,5</b>	<b>1,4</b>	<b>2,3</b>	<b>2,3</b>	<b>1,9</b>	<b>1,9</b>	<b>2,4</b>	

#### 4.1.4- Análisis univariado para la proporción de animales con estornudo

Se comparó el porcentaje de animales con estornudo para la variable granjas (n= 3), el valor de la media fue 12,42%, DE: 10,80, mediana: 10,9%, el valor mínimo fue 0 y el máximo 70,92.

En el gráfico 1 se expresan los resultados de los 432 registros de la proporción de animales con estornudo para la granja A, los 288 registros para la granja B y los 576 registros para la granja C. Se observó que la granja C la media obtenida es de 15,73 (DE 9,85) siendo mayor a las granjas A y B, las cuales resultaron en un 11,45 (DE 12,44) y 7,25 (DE 7,08) respectivamente.

Gráfico 1 (Boxplot): expresa la proporción de animales con estornudo total, obtenida por los 3 observadores para cada una de las granjas (A, B, C).

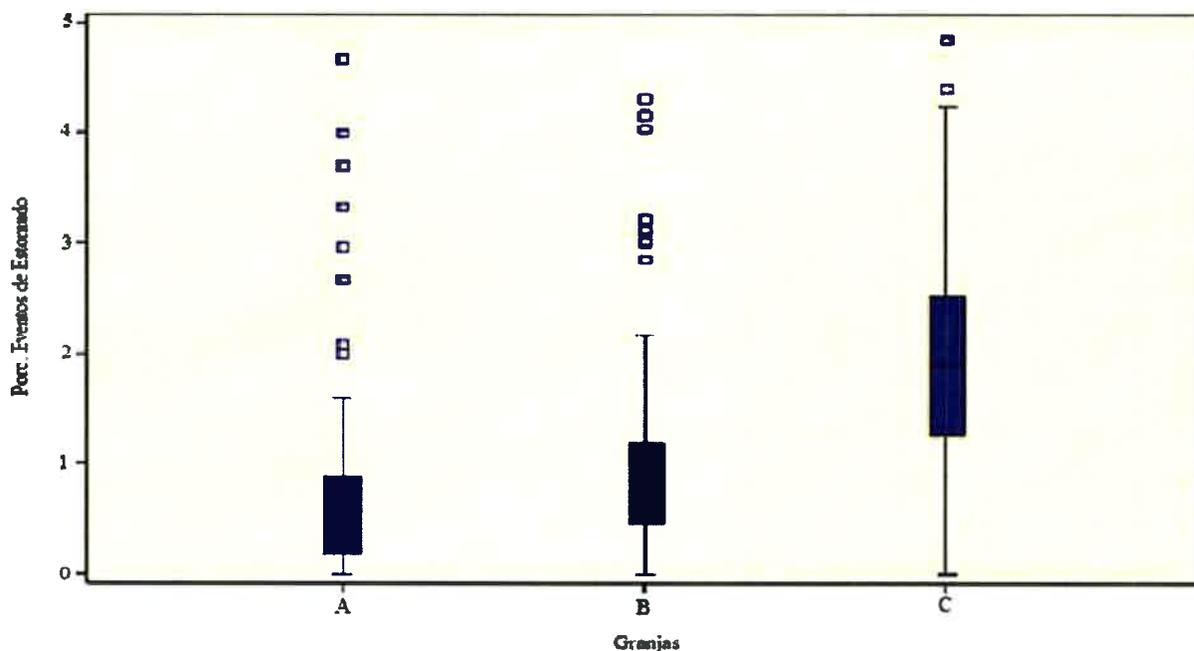


#### 4.1.5.- Resultados del análisis univariado para el Índice de estornudo

Se comparó el índice de estornudos para la variable granjas ( $n=3$ ). El resultado de esta variable arrojó una media de 1,36%, con un desvío estándar (DE) 1,07, mientras que la mediana fue 1,15 %, siendo el valor mínimo de 0 y el máximo de 4,84%.

En el grafico 2 se expresan los resultados de los 423 registros del índice de estornudo para la granja A, los 288 registros para la granja B y los 576 registros para la granja C. Se observa que la granja C la media obtenida es de 2,05 (DE 0,89) siendo mayor a las granjas A y B, las cuales resultaron en un 0,68 (DE 0,82) y 0,97 (DE 0,86) respectivamente. Por otro lado se puede observar un comportamiento similar a lo registrado para la proporción de animales con estornudo, donde la granja C presenta los valores más altos. Pero si muestra diferencias entre la granja A y B comparados con la proporción de animales con estornudo.

Gráfico 2 (Boxplot): resultados del índice de estornudo para cada una de las granjas (A, B, C).



#### 4.2.- Diferencia entre observadores para la proporción de animales con estornudo e índice de estornudo

##### 4.2.1.-Análisis de Concordancia para la proporción de animales con estornudo

Para los datos obtenidos se realizó un análisis de concordancia, para determinar la presencia o ausencia de estornudo, donde se compararon los 3 observadores para los 429 registros realizados en las tres granjas.

En la tabla 13 se expresa los resultados de concordancia obtenido a través de análisis de kappa el cual arrojó como resultado un valor de 0,82 considerado como un MUY BUENA concordancia para la detección del signo clínico por los 3 observadores.

Tabla 13: Análisis de concordancia para el total de observaciones en las tres granjas registrada por los tres observadores, en el total de las edades.

	Observaciones	Nivel de confianza	Kappa	IC	Estadístico Z	Valor p
Total	429	95,0%	0,82	0,7520 - 0,9009	29,6503	0,0000

En el análisis de concordancia para determinar la detección de estornudo, se compararon los 3 observadores por cada una de las granjas que están representados en la tabla 14, este análisis da como resultados para la granja A un valor de kappa de 0,85 (MUY BUENA CONCORDANCIA) con un intervalo de confianza (IC) de 0,76 a 0,94, en la granja B se obtiene un valor de kappa de 0,74 indicando una BUENA CONCORDANCIA, con un IC de 0,57 a 0,91 y para la granja C el resultados de kappa es de 0,49 (MODERADO ACUERDO), este valor está acompañado de un IC de 0,54 a 1,53.

Tabla 14: Análisis de concordancia para la detección de estornudo para cada una de las granjas, con los tres observadores y para todas las edades.

	Observaciones	Nivel de Confianza	<i>KAPPA</i>	IC	Estadístico Z	Valor P
Granja A	142	95,0%	0,85	0,7679 - 0,9432	17,6585	0,0000
Granja B	96	95,0%	0,74	0,5737 - 0,9183	12,6606	0,0000
Granja C	192	95,0%	0,49	-0,5489 -1,5363	11,8737	0,0000

En la tabla 15 se expresa el análisis de concordancia para la detección de estornudo para cada semana de edad involucradas en el estudio (4, 6, 8 y 10 semanas), se comparó los 3 observadores, dando como resultados que a las 4 semanas de edad el valor de kappa es de 0,83 indicando una MUY BUENA concordancia entre los observadores, para este valor de kappa el IC es de 0,73 a 0,92.

Para las 6 semanas de edad el resultado de kappa es de 0,70 indicando una BUENA concordancia, sin embargo el intervalo de confianza de 0,36 a 1,04. Los resultados de las 8 semanas de edad, muestran un acuerdo del 100%, todos detectaron el evento, por lo que la prevalencia es demasiado alta para el cálculo de kappa. Por otro lado los resultados de kappa para las 10 semanas de edad es de 0,54 indicando MODERADO acuerdo, este valor está acompañado de un IC de 0,05 a 1,02.

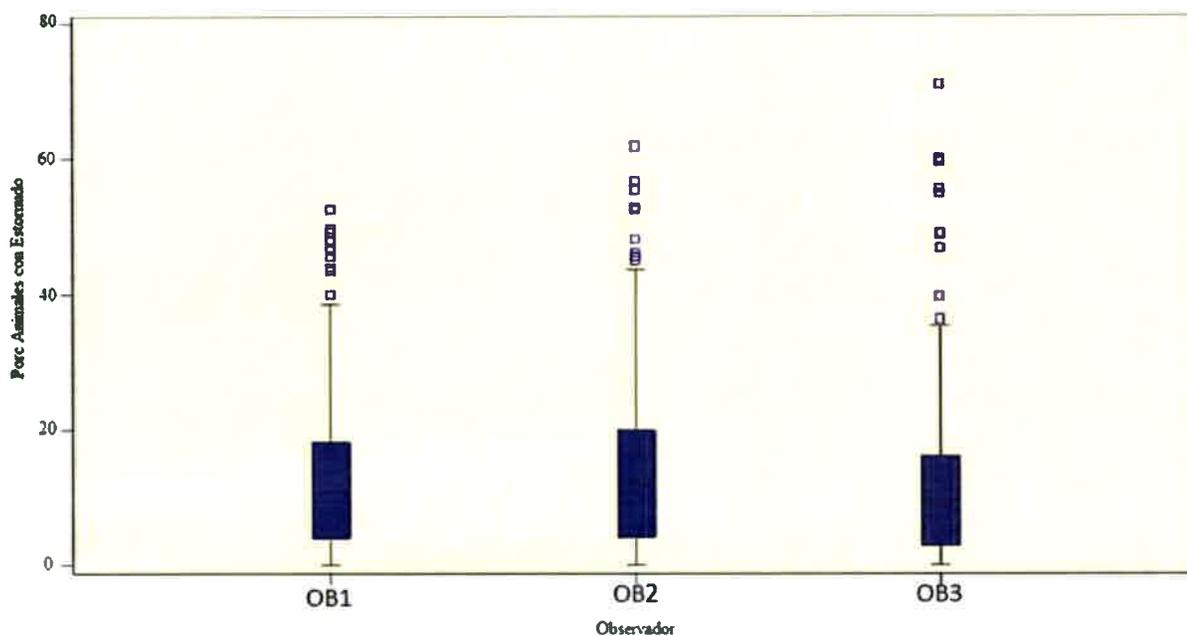
Tabla 15: Análisis de concordancia para la detección de estornudo por los tres observadores para cada edad de vida de los animales donde se ingresó.

	Observaciones	Nivel de Confianza	KAPPA	IC	Estadístico Z	Valor p
Semana 4	108	95,0%	0,83	0,7392 - 0,9226	14,9566	0,0000
Semana 6	108	95,0%	0,70	0,3602 - 1,0420	12,6249	0,0000
Semana 8						
Semana 10	105	95,0%	0,54	0,0560 - 1,0280	9,6281	0,0000

#### 4.2.2.- Resultados del análisis univariado para la proporción de animales con estornudo

Se comparó el porcentaje de animales con estornudo para las variable, observadores (n= 3). En el gráfico 3 se expresan los 429 registros realizado por cada uno de los observadores resultando en el análisis los siguientes valores. Para el observador 1 presenta una media de 12,32 (DE 10,21) de manera similar el observador 2 obtuvo una media de 13,83 (DE 11,71) y el observador 3 presenta una media de 11,11 (DE 10,26)

Gráfico 3 (Boxplot): expresa la proporción de animales con estornudo por cada observador (OB1, OB2, OB3).



El modelo final ajustado en el análisis multivariado para la proporción de animales con estornudo, resultó que el observador 2 registro un 7.8916% más, de proporción de animales con estornudos.

#### 4.2.3.- Análisis de concordancia para el índice de estornudos

Para los datos obtenidos se realizó un análisis de concordancia, que determinar la presencia o ausencia eventos de estornudo, donde se compararon los 3 observadores para los 429 registros realizados en las tres granjas.

En la tabla 16 se expresa los resultados de concordancia obtenido a través de análisis de kappa el cual arrojó como resultado un valor de 0,83 con un IC de 0,75 a 0,90 considerado como un MUY BUENA concordancia para la detección del signo clínico por los 3 observadores.

Tabla 16: Análisis de concordancia para la detección del índice de estornudo, por los tres observadores en todas edades y en las tres granjas.

	Observaciones	Nivel de confianza	Kappa	IC	Estadístico Z	Valor p
Total	429	95,0%	0,83	0,7571 - 0,9030	29,7770	0,0000

En la tabla 17 se expresa el análisis de concordancia para la presencia o ausencia del índice de estornudo para cada semana de edad involucradas en el estudio 4, 6, 8 y 10 semanas, a través de este análisis se comparó los 3 observadores, dando como resultados que a las 4 semanas de edad el valor de kappa es de 0,81 indicando una muy buena concordancia entre los observadores, para este valor de kappa donde el IC es de 0,72 a 0,91.

Para las 6 semanas de edad el resultado de kappa es de 0,80 indicando una buena concordancia, sin embargo el intervalo de confianza de 0,55 a 1,05. Los resultados de las 8 semanas de edad no se presentan debido a que el análisis de kappa emite error de resultados. Por otro lado los resultados de kappa para las 10 semanas de edad es de 0,54 indicando moderado acuerdo, este valor está acompañado de un IC de 0,05 a 1,02.

Tabla 17: Análisis de concordancia para la detección del índice de estornudo por los tres observadores para cada una de las semanas de edad de los animales

	Observaciones	Nivel de confianza	kappa	IC	Estadístico Z	Valor P
Semana 4	108	95,0%	0,81	0,7230 - 0,9124	14,7191	0,0000
Semana 6	108	95,0%	0,80	0,5502 - 1,0550	14,4497	0,0000
Semana 8						
Semana 10	105	95,0%	0,54	0,0560 - 1,0280	9,6281	0,0000

#### 4.2.4.- Análisis de la correlación de Pearson

La correlación para los observadores según el tipo de estímulo (n= 143) para el índice de estornudo.

Tabla 18: Resultados de correlación para los observadores según el tipo de estímulo.

Sin estímulo	Media	DE	Mínimo	Máximo
Observador 1	1.3919	1.0246	0	4
Observador 2	1.2761	0.9671	0	4.3
Observador 3	1.3958	1.1516	0	4.4
<b>Estímulo 1</b>				
Observador 1	1.3607	1.0695	0	4.84
Observador 2	1.2016	0.9900	0	4
Observador 3	1.4369	1.1479	0	4.66
<b>Estímulo 2</b>				
Observador 1	1.4471	1.0937	0	4.4
Observador 2	1.1648	0.9287	0	3.63
Observador 3	1.5931	1.2098	0	4.4

Tabla 19: Análisis del coeficiente de correlación para los observadores según tipo de estímulo

#### Sin estímulo

	Observador 1	Observador 2	Observador 3
Observador 1	1.00		
Observador 2	0.8583*	1.00	
Observador 3	0.8069*	0.8285*	1.00

#### Estímulo 1

	Observador 1	Observador 2	Observador 3
Observador 1	1.00		
Observador 2	0.8768*	1.00	
Observador 3	0.8560*	0.8412*	1.00

#### Estímulo 2

	Observador 1	Observador 2	Observador 3
Observador 1	1.00		
Observador 2	0.8423*	1.00	
Observador 3	0.8099*	0.7445*	1.00

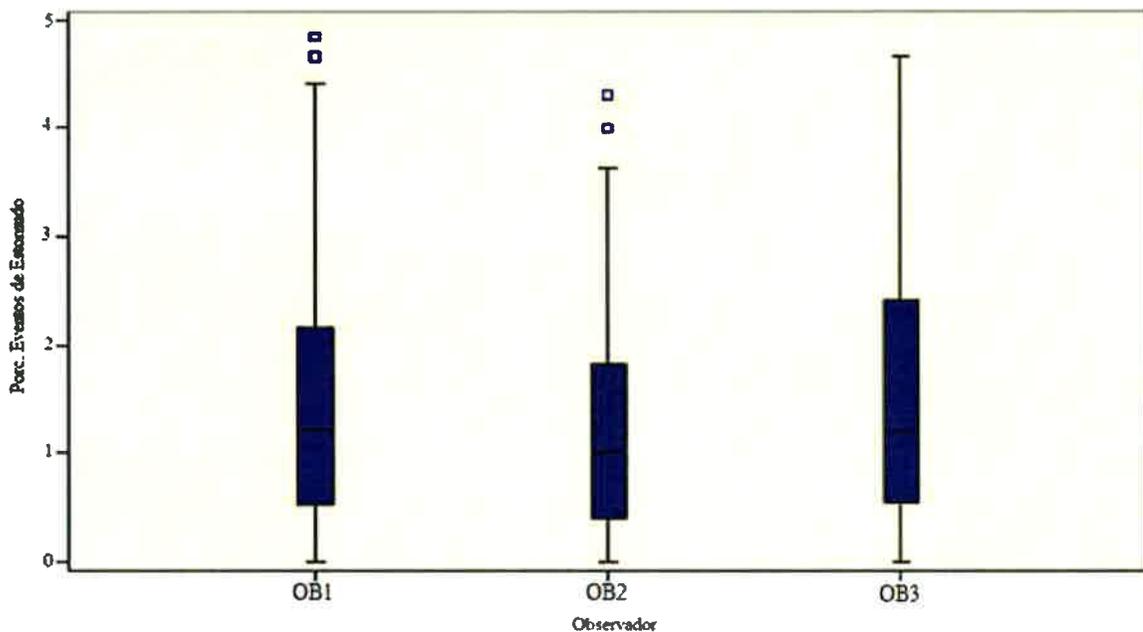
\*  $p < 0.001$

El coeficiente de correlación de Pearson muestra una alta y significativa correlación entre los 3 observadores para el índice de estornudo ya sea en la evaluación de la ausencia de estímulo, con estímulo 1 y 2. (Tabla 19)

#### 4.2.4.- Resultados del análisis univariado para el Índice de estornudo

Se comparó el índice de estornudos para la variable observadores (n= 3). El gráfico 4 expresa los 429 registros realizados por cada uno de los observadores. Para el observador 1 presenta una media de 1,39 (DE 1,06) de manera similar el observador 2 obtuvo una media de 1,21 (DE 0,96) y el observador 3 presenta una media de 1,47 (DE 1,17).

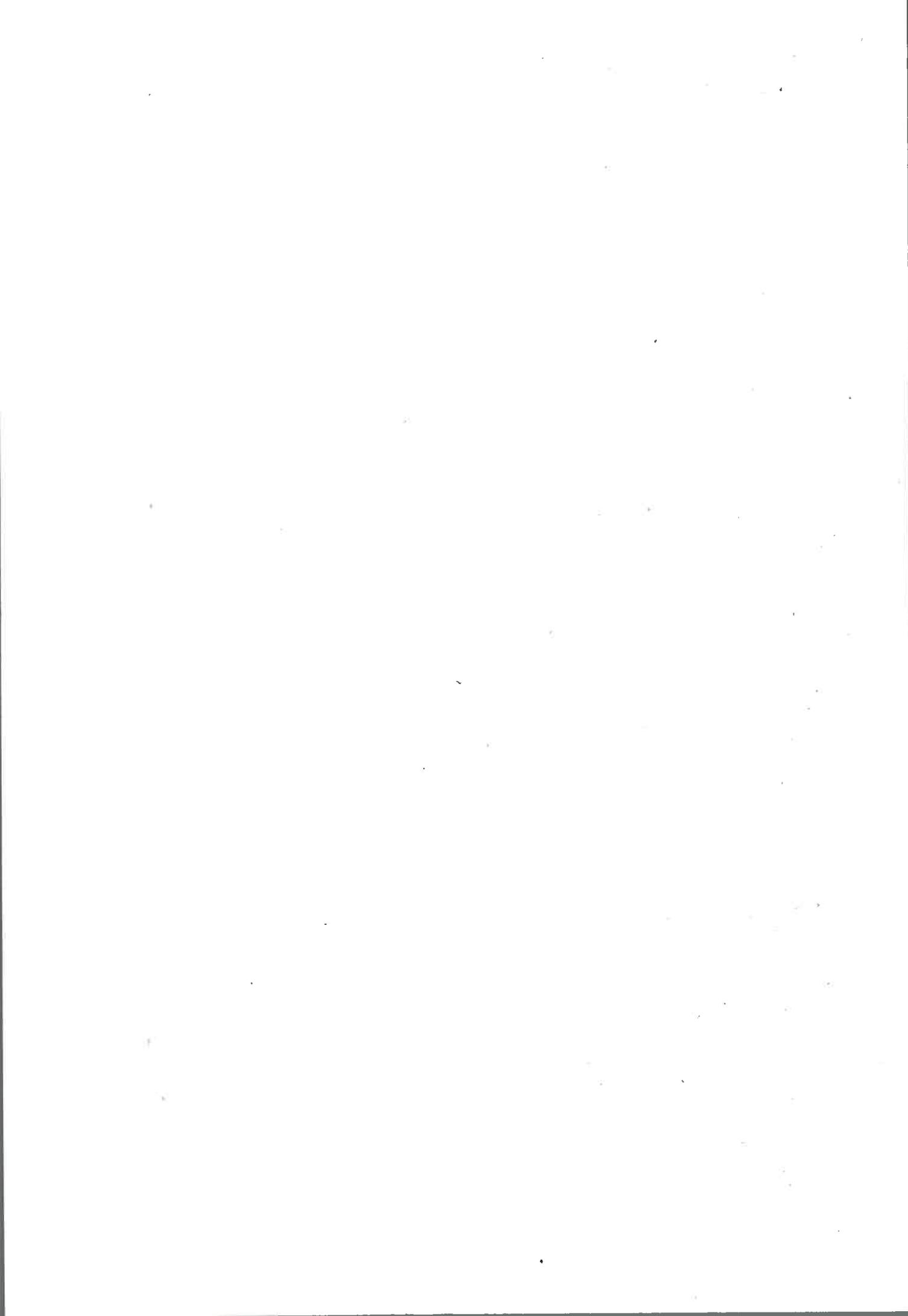
Gráfico 4 (Boxplot): resultados del índice de estornudo para cada uno de los observadores (OB1, OB2, OB3).



### 4.3.- Análisis de la proporción de animales con estornudo e índice de estornudo por estímulo

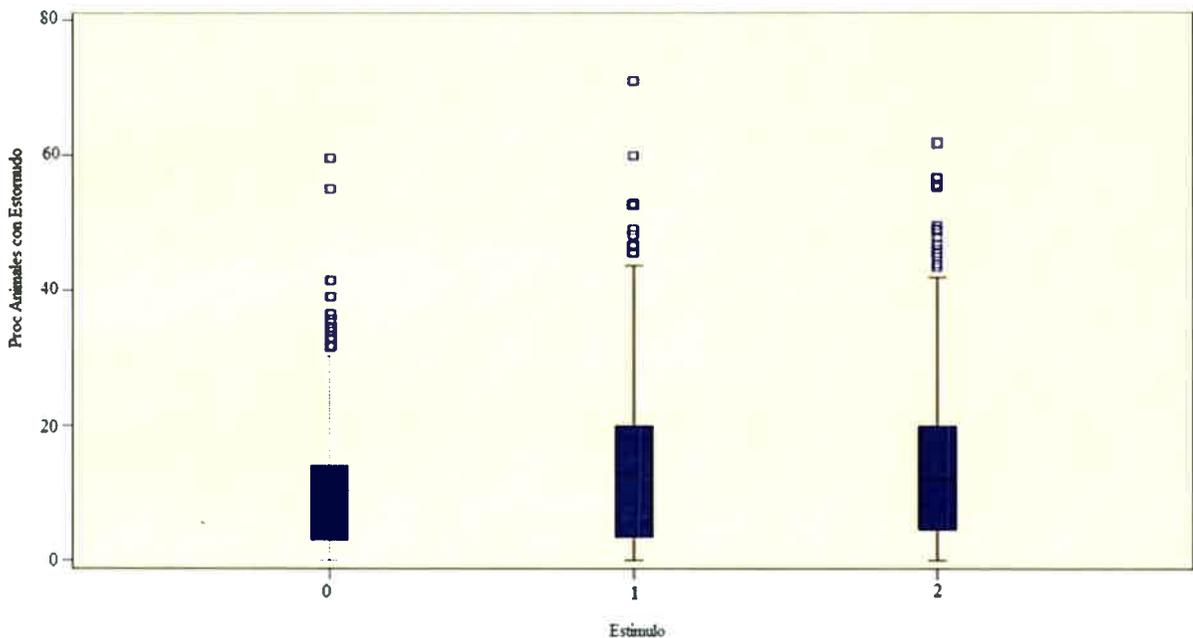
#### 4.3.1.- Análisis de la proporción de animales con estornudo

Se comparó el porcentaje de animales con estornudo para la variable tipo de estímulo (0, 1 y 2). El análisis sobre los 429 registros de la proporción de animales con estornudo, para cada estímulo dio como resultados que la media del estímulo 1 y estímulo 2 es del 14,84 (DE 11,84)



y 13,61 (DE 11,28) respectivamente, mientras que el estímulo 0 arrojó una media de 9,57 (DE 8,40). Estos datos se encuentran representados en el gráfico 5.

Gráfico 5 (Bloxpot): expresa la proporción de animales con estornudo por cada uno de los estímulos (0, 1, 2).

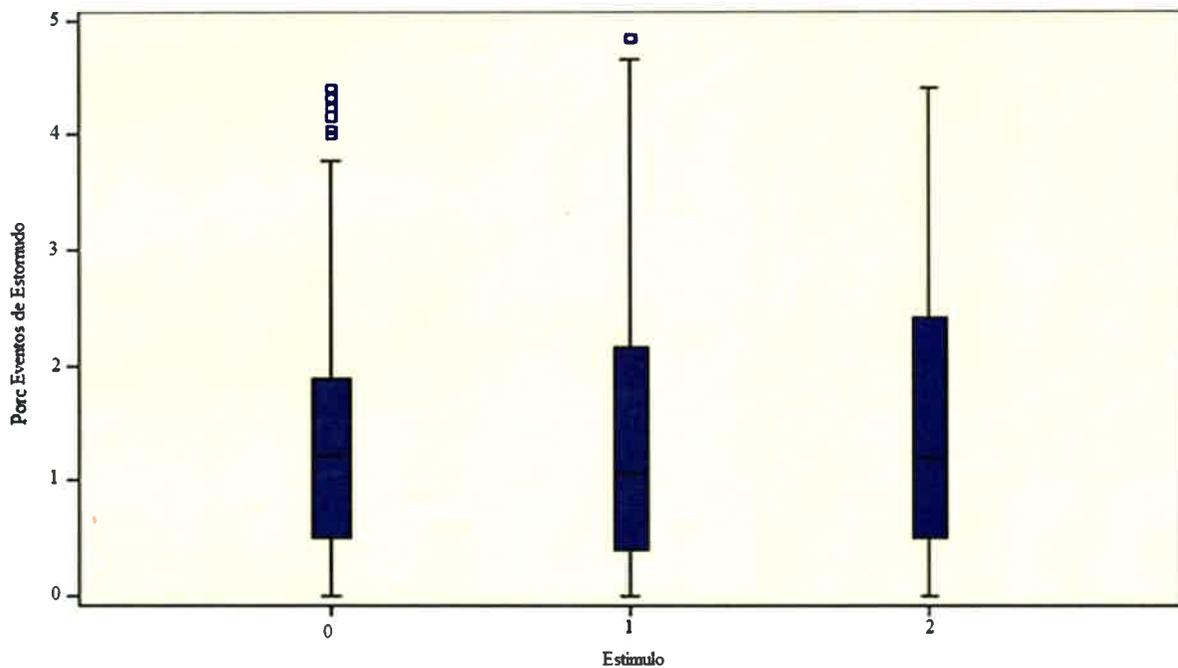


#### 4.3.2.- Resultados del análisis univariado para el Índice de estornudo

Se comparó el índice de estornudos para la variable, tipo de estímulo (0, 1 y 2). El análisis sobre los 429 registros del índice de estornudos, para cada estímulo dio como resultados que las medias del estímulo 0, 1 y 2 es de 1,35 (DE 1,04), 1,33 (DE 1,07) y 1,40 (DE 1,09) respectivamente. El análisis de correlación para los observadores según el tipo de estímulo emitió los siguientes resultados. Al analizar los valores en el estímulo 0 el observador 1 registro una media de 1,39 (DE 1,02, con Min 0 y Max 4) el Observador 2 una media 1,27 (DE 0,96, Min 0 y Max 4,3) para el observador 3 presento una media de 1,39 (DE 1,15, Min 0 y Max 4,4). Para el estímulo 1 los resultados obtenidos muestra una media de 1,36 (DE 1,06, Min 0, Max 4,84) el observador 2 presenta una media de 1,20 (DE 0,99, Min 0 y Max 4) y el observador 3 obtuvo una media de 1,43 (DE 1,14, Min 0, Max 4,66). Para el estímulo 2 los resultados de la media para el observador 1, 2 y 3 fueron, 1,44 (DE 1,09, Min 0, Max 4,4), 1,16 (DE 0,92, Min

0, Max 3,63) y 1,59 (DE 1,20, Min 0, Max 4,4) respectivamente. Estos datos se encuentran representados en el gráfico 6.

Gráfico 6: (Boxplot): resultados del índice de estornudo para cada uno de los estímulos (0, 1, 2)  
Índice de estornudo según estímulo.

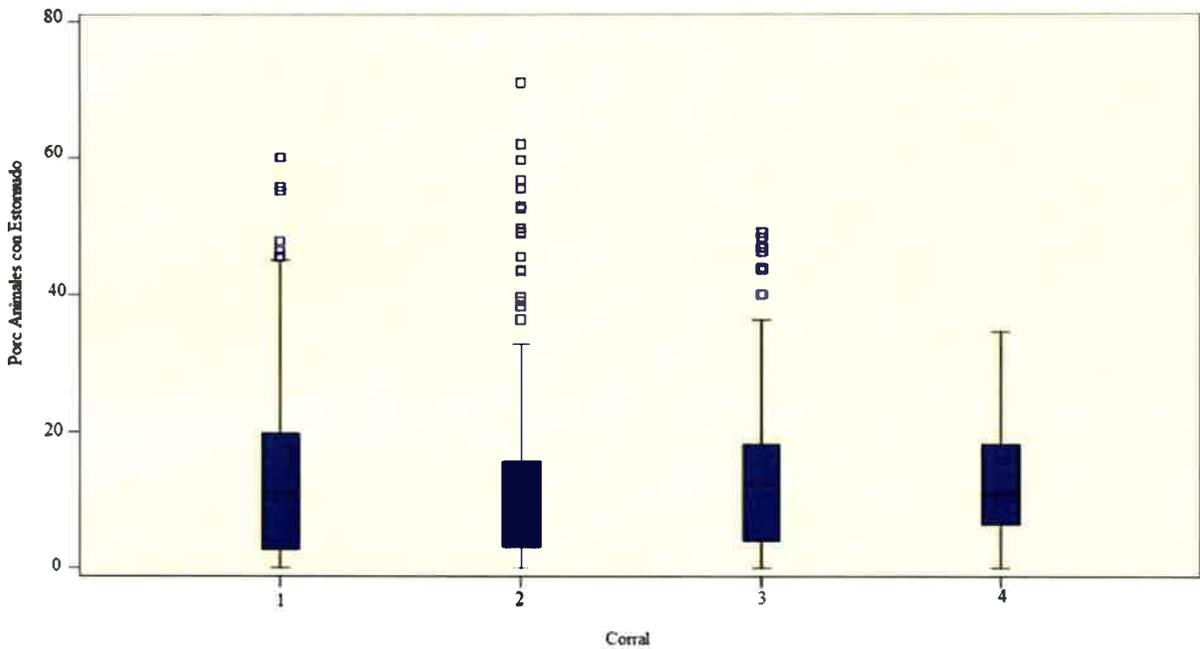


#### 4.4.- Análisis univariado para la proporción de animales con estornudo e índice de estornudo por corral

##### 4.4.1.- Análisis univariado para la proporción de animales con estornudo

Se comparó el porcentaje de animales con estornudo para la variable, corral (n= 4) de las tres granjas. Para el corral 1 en el cual se registraron 432 observaciones, se obtiene una media de 13,00 (DE 11,56), para las 432 observaciones en el corral 2 la media es del 11,61 (DE 11,30), en el corral 3 con 279 observaciones la media es de 12,75 (DE 10,09) y para el corral 4 donde se realizaron 144 observaciones el análisis dio una media de 12,45 (DE 7,72). (Gráfico 7)

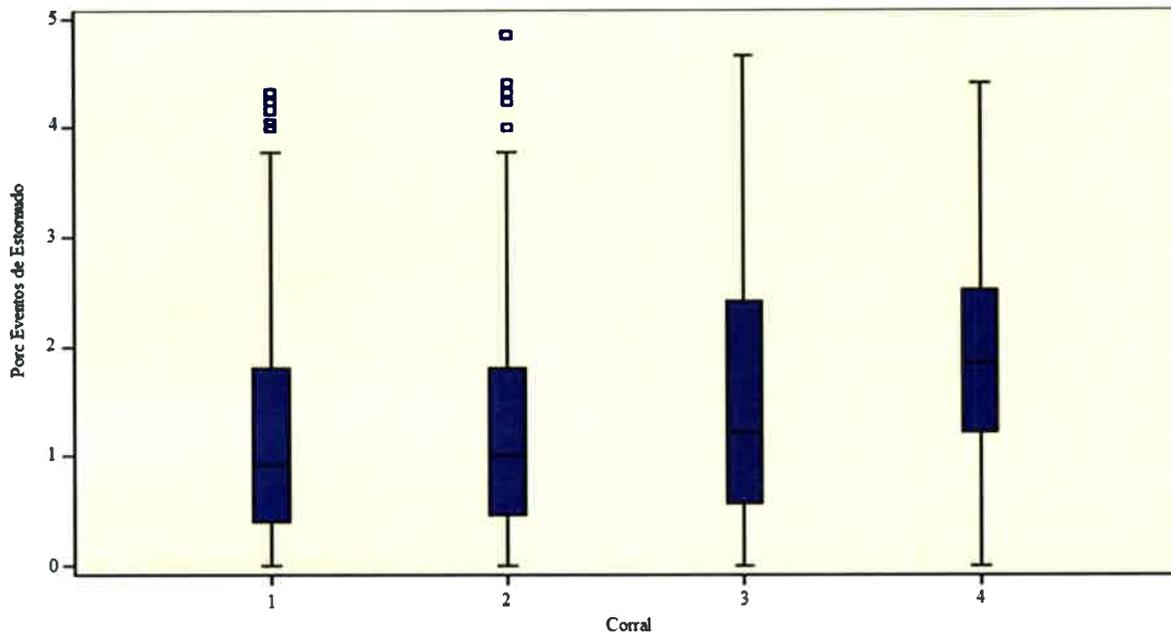
Gráfico 7 (Bloxpot): expresa la proporción de animales con estornudo por cada uno de los corrales (1, 2, 3, 4).



#### 4.4.2.- Análisis univariado para el Índice de estornudo

Se comparó el índice de estornudos para la variable corral ( $n= 4$ ). Para el análisis del índice de estornudo por corral los resultados obtenidos muestran para el corral 1 con 432 registros una media de 1,21 (DE 1,04) para el corral 2 con 432 observaciones la media es de 1,27 (DE 1,06), para el corral 3 con 279 registros la media obtenida es de 1,41 (DE 1,06) y por ultimo para el corral 4 con 144 observaciones la media es de 1,98 (DE 0,94). (Gráfico 8)

Grafico 8 (Boxplot): resultados del índice de estornudo para cada uno de los corrales (1, 2, 3, 4).

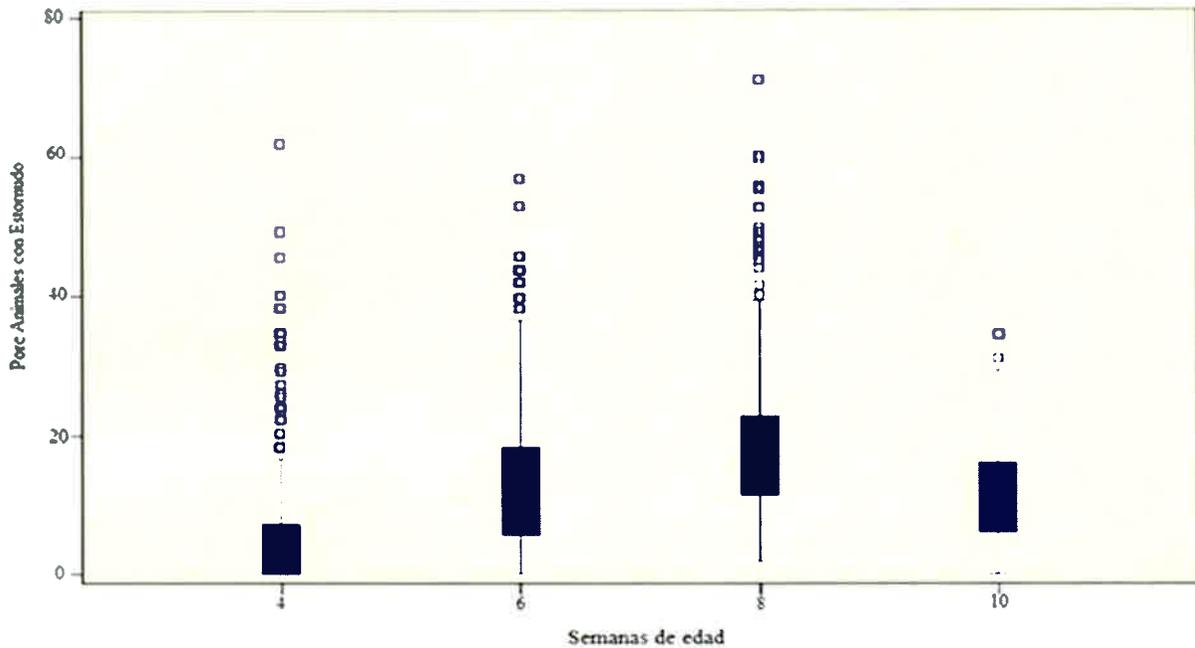


#### 4.5.- Análisis univariado para la proporción de animales con estornudo e índice de estornudo por edad

##### 4.5.1.- Resultados del análisis univariado para la proporción de animales con estornudo

Se comparó el porcentaje de animales con estornudo para la variable edad de cerdos (4, 6, 8 y 10 semanas). Como dato adicional del análisis de los registros se obtuvo resultados para cada una de las semanas inspeccionadas. De los 324 registros realizados para las 4, 6 y 8 semanas de edad se obtuvo como media 5,76 (DE 9,69), 13,29 (DE 10,48) y 19,27 (DE 11,24) respectivamente. Mientras que para las 315 observaciones realizadas a las 10 semanas de edad la media es de 11,32 (DE 6,91). Mostrando un comportamiento donde en las 8 semanas de edad se registró la mayor proporción de animales con estornudo. (Grafico 9)

Gráfico 9 (Bloxpot): expresa la proporción de animales con estornudo por cada semana de edad (4, 6, 8 y 10).

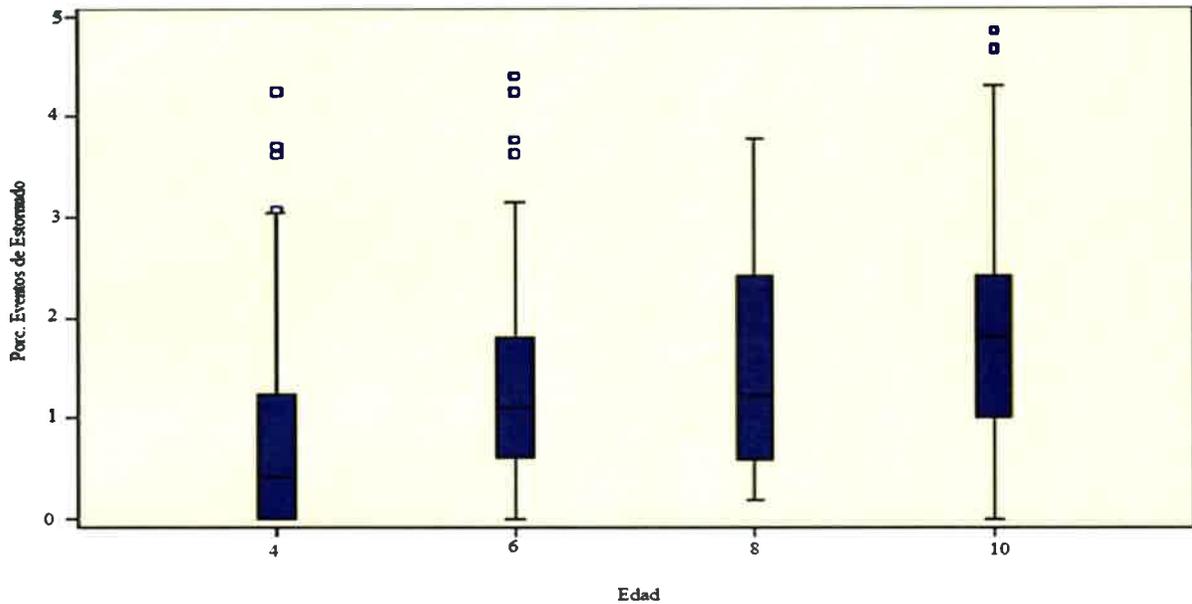


El modelo final ajustado en el análisis multivariado resultó en los siguientes factores asociados para la proporción de animales con estornudo, siendo la edad de 4 semanas (0,04%) y 8 semanas (12,31%) las edades con menor y mayor proporción animales con estornudo comparado a la edad de 10 semanas, respectivamente.

#### 4.5.2.- Resultados del análisis univariado para el Índice de estornudo

Se comparó el índice de estornudos para la variable edad de cerdos (4, 6, 8 y 10 semanas). Para el análisis del índice de estornudo por edad de los animales en estudio resultó en los siguientes valores, para la edad de 4 semanas de edad donde se realizó 324 observaciones la media resultó en 0,77 (DE 0,91), para las 6 y 8 semanas de edad donde se realizó 324 observaciones para cada una, las medias resultantes son de 1,32 (DE 0,94) y 1,47 (DE 1,02). Para las 10 semanas de edad donde se registró 314 observaciones la media es de 1.88 (DE 1,06), expresados en el gráfico 10.

Gráfico 10 (Boxplot): resultados del índice de estornudo registrado para cada semana de edad los animales (4, 6, 8, 10).

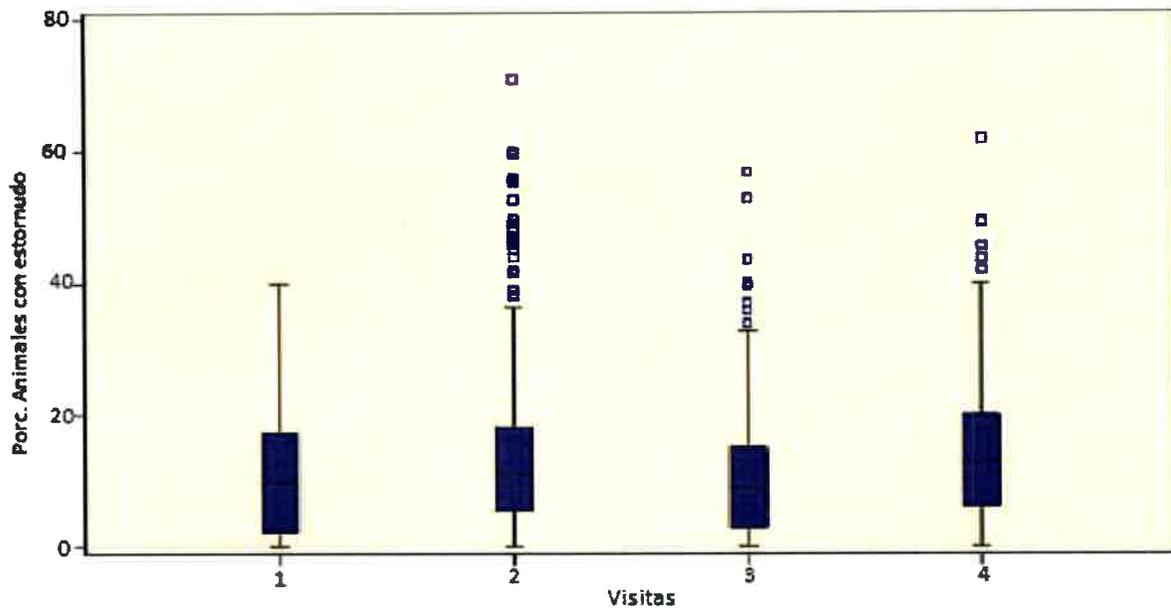


#### 4.6.- Análisis univariado para la proporción de animales con estornudo e índice de estornudo por visita.

##### 4.6.1.- Resultados del análisis univariado para la proporción de animales con estornudo

Se comparó el porcentaje de animales con estornudo para la variable visitas (1, 2, 3 y 4 visitas). Para la visita 1 de los 324 registros realizados se obtuvo como media de 10,91 (DE 8,93 y una mediana de 9,68), en la visita 2 del total de 315 registros la media fue de 14,19 (DE 13,10 y la mediana de 10,9), en la visita 3 se obtuvo una media de 10,43 (DE 9,29 y una mediana de 8,96) y en la visita 4 los resultados de los 324 registros arrojaron una media de 14,19 (DE 10,9 y una mediana de 12,72) estos valores reflejan que el signo clínico estuvo presente en las 4 visitas realizadas a cada granja. (Gráfico 11)

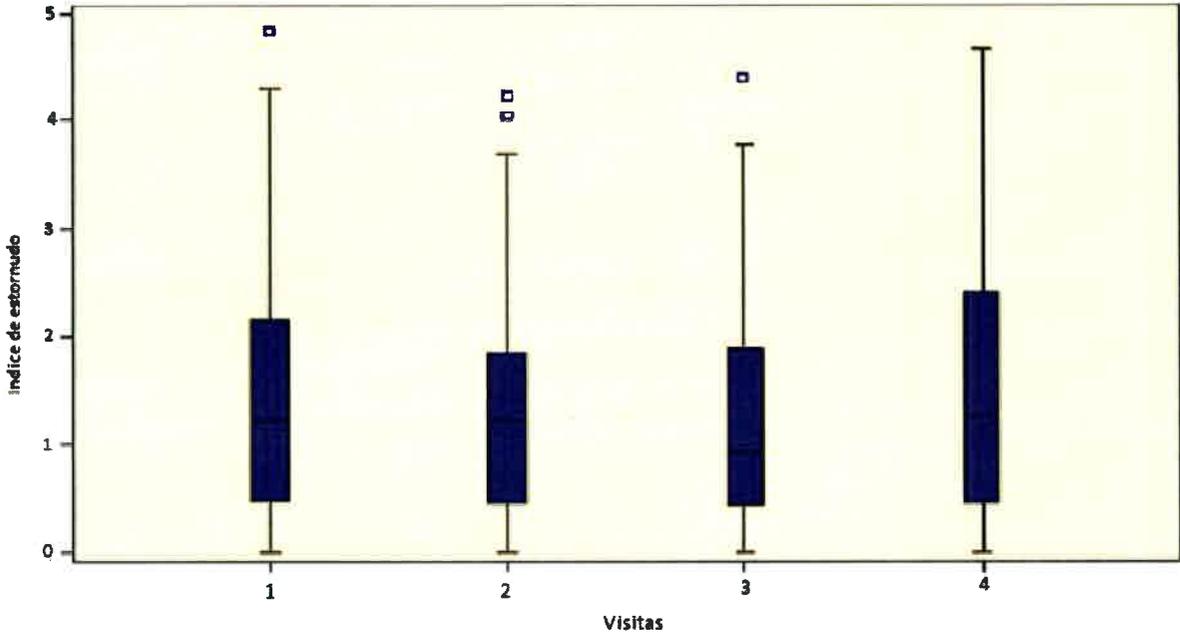
Gráfico 11 (Boxplot): Se observan los resultados de la proporción de animales con estornudo registrados en las cuatro visitas.



#### 4.6.2.- Resultados del análisis univariado para el Índice de estornudo

Se comparó el índice de estornudos para la variable Visitas (1, 2, 3 y 4 visitas). Para el análisis del índice de estornudo por visita resulto en los siguientes valores, para la visita 1 donde se realizó 324 observaciones la media resulto en 1,35 (DE 1,1 y mediana de 1,21), para la visita 2 la media fue de 1,33 (DE 0,97 y mediana de 1,21), para la vista 3 los 324 registros resultaron en una media de 1,21 (DE 1,01 y una mediana de 0,92) y para la visita 4 donde también hubo 324 registro los resultaron de media es 1,55 (DE 1,1 y una mediana de 1,25) estos resultados permiten decir que los eventos de estornudo (para calcular el índice) estuvieron presentes en las 4 visitas realizadas a las 3 granjas. (Gráfico 12)

Gráfico 12 (Boxplot): Se observan los resultados del índice de estornudo registrado en las cuatro visitas.



## 5.-DISCUSIÓN

Tal como se describe en la introducción, el diagnóstico clínico de algunas enfermedades que afectan el tracto respiratorio superior, como por ejemplo las causadas por la Enfermedad de Aujeszky, la rinitis a cuerpo de inclusión, la influenza porcina, la rinitis atrófica, gases como el amoníaco, y el polvillo (Van Alstine, 2012) entre otros, es a menudo, difícil para los encargados de las granjas cuando se presentan de forma sub-clínica o crónica, no solamente por la subjetividad del signo clínico, ya que el diagnóstico de certeza lo determina finalmente el laboratorio de diagnóstico, sino también por la multiplicidad de tarea que ellos realizan y el escaso tiempo disponible para observar los animales, aun mas y si a esto le agregamos la falta de una metodología adecuada para realizar el diagnóstico. Por tal motivo, la clinimetría podría ser de gran ayuda para los encargados de granjas, en el diagnostico presuntivo de estas enfermedades.

### INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN

Los instrumentos de medición de signos clínicos deben ser fiables y al ser utilizados por distintas personas deben lograr tener un alto grado de coincidencia entre ellas al ser utilizados (De Vet *et al.*, 2003). Desarrollar protocolos para la medición de estornudos, así como para la medición de cualquier otro signo clínico, es pues una tarea importante independientemente del diagnóstico de certeza del agente etiológico.

Estudios anteriores en los cuales se cuantificaron distintos signos clínicos como la tos (Maes *et al.*, 1999; Halloy *et al.*, 2004; Maes *et al.*, 2005; Laohasinnarong *et al.*, 2008; Vilalta *et al.*, 2011; Ural *et al.*, 2011; Fablet *et al.*, 2012; Woolley *et al.*, 2012; Petersen *et al.*, 2014), diarreas (Pedersen *et al.*, 2011), o incluso estornudo (Dalla Costa *et al.*, 2008; Parada *et al.*, 2010; Pósa *et al.*, 2011; Pomorska-Mól *et al.*, 2013; Rose *et al.*, 2013), no describen el instrumento de medición empleado. En este sentido, los instrumentos de medición pueden estar destinados a discriminar entre signos clínicos en un momento determinado (medición discriminativa), o para medir el cambio o la evolución en el tiempo del signo clínico (medición evaluativa). Para la medición evaluativa, los instrumentos deben permitir el registro de estos cambios y en el presente estudio el instrumento que fue generado para la medición de los dos

parámetros con los que se trabajó (proporción de animales con estornudo y del índice de estornudo) fue la planilla (Esquema 4)

### **Presencia de estornudo: Proporción de animales con estornudo e índice de estornudo.**

Por otro lado detectar la presencia o ausencia de estornudo, como los eventos de estornudos, solo nos permite informar si el signo está presente y en qué momento aparece, tal como lo describe Woolley *et al.*, (2012) con la tos. Pero la prevalencia de animales con signos clínicos no puede ser demostrada. Si bien, autores como Pomorska-Mol *et al.*, (2013) y Pósa *et al.*, (2011), utilizan esta herramienta de presencia y ausencia de estornudo o como Baadsgaard y Jørgensen (2003) que registran signos respiratorios pero en sus trabajos no se describe la metodología utilizada por lo que la comparación puede ser difícil de lograr.

### **Proporción de animales con estornudo:**

Para la medición de la proporción de animales con estornudo se adaptó un protocolo propuesto por Laohasinnarong *et al.*, (2008) para el registro de tos, quien lo toma de Maes *et al.*, (1999). En principio, se decidió emplear este protocolo porque llevaba el mismo tiempo de medición que el empleado para el índice de estornudo y porque de los protocolos revisados (Parada *et al.*, 2010; Dalla Costa *et al.*, 2008; Halloy *et al.*, 2004; Fablet *et al.*, 2012; Rose *et al.*, 2013) fue el único que indica claramente el tiempo de estimulación.

La proporción de animales con estornudos, empleando el protocolo desarrollado pudo ser medida en las tres granjas. La proporción de animales con estornudo varió entre un 0% y un 70,92% en animales de distintas edades de la etapa de recría y distintas granjas (Gráfico 1)

Refiriéndonos concretamente a las granjas, en la granja A se observó mayor cantidad de valores extremos (Gráfico 1), la granja B mostró la menor proporción de animales con estornudo (Gráfico 1) y la granja C tuvo la media más alta de las 3 granjas (Gráfico 1). A diferencia de Parada *et al.*, (2010), podemos decir que a pesar de que el comportamiento del signo clínico es similar, los porcentajes de animales con estornudo fue superior (máximo 70,92%) a los registrados por estos autores (8%). Esto podría deberse a que la metodología empleada en este trabajo de tesis permitió detectar más animales con signos clínicos, pero como estos autores no describe la metodología que les permitió registrar el 8% de animales con estornudo, estudios de

comparación son difíciles de establecer. Por otro lado podría deberse a las diferencias de presentación clínicas entre granjas, posiblemente influenciadas por la presencia de diferentes enfermedades que conforman el complejo respiratorio, como las que ya han sido indicadas en la introducción de este trabajo. Sin embargo, para poder diferenciar estas enfermedades sería necesario registrar y combinar otros signos clínicos, como ha sido descrito por Rose *et al.*, (2013).

Respecto a las edades de los cerdos con los cuales se trabajó, podemos decir que el estornudo estuvo presente en todas estas edades y que se observó un comportamiento similar en las tres granjas. Tal como se observa en el gráfico 9 los registros realizados a las 4, 6 y 8 semanas de edad muestran un alza en la proporción de animales que estornudan, conforme avanza la edad de los cerdos, mientras que a las 10 semanas de edad hay un descenso en la proporción respecto a la inspección anterior, estos valores nos indican un comportamiento del signo clínico. Este signo clínico registrado por edad presenta un comportamiento similar a los descriptos por Parada *et al.*, (2010) y Rose *et al.*, (2013). Otra metodología fue utilizada por Baadsgaard, y Jørgensen en el 2003, Pomorska-Mól *et al.*, (2013) y Pósa *et al.*, (2011) donde registraron sólo la presencia o ausencia del estornudo. Si nos basamos solo en la detección del signo, podríamos decir que estuvo presente en todas las edades, pero cuantificar además nos permite decir que el protocolo empleado en las cuatro visitas (Gráfico 11) podría ser utilizado en estudio de corte transversal para obtener un panorama general de la dinámica del signo clínico en una determinada granja, por lo que el protocolo permite objetivizar el estudio de agentes específicos que afectan la cavidad nasal (Gráfico 9).

En nuestro país, en los sistemas de producción confinados, los cerdos de la misma edad en la etapa de recría generalmente son separados en diferentes corrales. Considerando que en el presente estudio se registró la proporción de animales con estornudo en la totalidad de los corrales, en cada una de las granjas, para cada una de las semanas de edad analizadas y que las diferencias entre de los corrales fueron de solo el 1% (Gráfico 7), podría decirse que no es necesario ingresar a todos los corrales de cada semana de edad. Siendo este un dato interesante para lograr que el encargado, quien tiene poco tiempo, pueda realizar una observación clínica sin necesidad de ingresar a el total de los corrales, lo que disminuye el tiempo empleado en el monitoreo. Si bien esto se contradice con lo propuesto por Petersen *et al.*, (2004), donde

inspeccionó el total de los corrales con cerdos de terminación, tarea que le llevó 4 horas por granja, los resultados del presente trabajo facilitarían el examen clínico de poblaciones de animales, usando un método como el realizado.

### **Índice de estornudo**

De la misma manera que para la proporción de animales con estornudo, se decidió adaptar un índice empleado por Banson, (1993) y Nathues *et al.*, (2012) para determinar si es posible registrar eventos de estornudo. Los resultados obtenidos nos permiten decir que índice de estornudo pudo ser detectado en todas las granjas, en todos los corrales y en animales de todas las edades. Lo que es muy importante ya que es uno de los objetivos de este trabajo y que combinado con el registro de la proporción de animales con estornudo podrían ser una herramienta para una mejor cuantificación y valoración del signo clínico en animales de recría.

Si tenemos en cuenta lo descrito por Banson, (1993), quien utiliza este modelo de índice para relacionar el signo clínico de tos con lesiones de neumonía, donde indica que existe una relación positiva entre el índice y lesiones a frigorífico, podríamos decir que la diferencia entre las granjas con respecto al índice de estornudo podría ser atribuida a diferencias en la gravedad de lesiones, sin embargo sería necesario profundizar estudios posteriores para determinar si las diferencias entre los índices se relacionan con una mayor o menor severidad de lesión en la cavidad nasal.

En lo referente a las granjas el índice de estornudo vario de 0 a 8,4% con una media de 1,36% (Gráfico 2). En la granja C la media obtenida fue de 2,05 siendo mayor a la granja A y B, las cuales resultaron en un 0,68 (DE 0,82) y 0,97, respectivamente, (Gráfico 2) se puede observar un comportamiento similar a lo registrado para la proporción de animales con estornudo, donde la granja C presenta el valor más alto. Pero si se observaron diferencias en la proporción de animales con estornudo para la granja A y B (Gráfico 1). Teniendo en cuenta estos resultados podemos decir que en aquellas granjas en donde se encuentre una mayor proporción de animales con estornudo sería probable de esperar una mayor proporción del índice de estornudo.

De la misma forma, el índice de estornudo fue registrado en la totalidad de los corrales de cada edad, en cada granja y no hubo diferencias entre las medias, lo que podría indicar que no es necesario ingresar a la totalidad de los corrales presentes para cada semana de edad. Siendo

es muy beneficioso para la practicidad del protocolo adaptado, ya que el encargado de la granja no necesitaría entrar a la totalidad de los corrales para obtener una dinámica de este índice en las granjas. En este sentido lo mismo podría decirse para el número de visitas ya que si bien hubo diferencias significativas.

De manera similar a la proporción, el índice de estornudo fue aumentando conforme avanza la edad de los animales (0,77; 1,32; 1,47 y 1,88 a las 4, 6, 8 y 10 semanas de edad respectivamente (Gráfico 5). Si bien para este índice de estornudo el valor máximo se presenta a las 10 semanas de edad (Gráfico 5), y la mayor la proporción de animales con estornudo fue a las 8 semanas, lo que nos podría estar indicando que la severidad del cuadro clínico se presenta posterior a la mayor proporción de animales con estornudo. Sin embargo como se menciona anteriormente estudios posteriores se requieren, para poder establecer una relación entre el índice y la severidad de la afección en la cavidad nasal.

## **Estímulos para la proporción de animales con estornudo e índice de estornudo**

### **Proporción de animales con estornudo**

El signo clínico estuvo presente en cada uno de los estímulos. Si tenemos en cuenta el gráfico 5, donde se expresó que la media del estímulo 1 y estímulo 2 es del 14,84 (DE 11,84) y 13,61 (DE 11,28) respectivamente, mientras que el estímulo 0 arrojó una media de 9,57 (DE 8,40), podríamos decir que en el primer estímulo se registró un 5% más de animales, mientras que en el segundo estímulo se registró un 4% más de animales con respecto a sin estimular, Sin embargo estas diferencias no fueron significativas. Estos resultados nos permitirían decir que para la medición de este parámetro no es necesario movilizar los animales, lo que redundaría en un menor tiempo destinado a obtener la proporción de animales con estornudo.

Se decidió realizar esta comparación entre estímulos ya que en estudios previos en los que se midió la proporción de animales con estornudo, no se describen detalladamente si hubo estímulo o no, la duración de los mismos y si eran o no de forma continua (Parada *et al.*, 2010; Pósa *et al.*, 2011; Pomorska-Mól *et al.*, 2013; Rose *et al.*, 2013). Esto indicaría la necesidad de definir la cantidad de estímulo, duración y continuidad de los mismos, para poder comparar los resultados de distintos estudios en diferentes partes del mundo.

## **Índice de estornudo:**

De la misma manera que para la proporción, hubo diferencia entre las medias de animales con 0, 1 y 2 estímulos, que fueron de 1,35 (DE 1,04), 1,33 (DE 1,07) y 1,40 (DE 1,09) respectivamente (Gráfico 6), sin embargo estas diferencias no fueron significativas. Como este índice fue adaptado por primera vez en este estudio, no se encontraron antecedentes en la literatura con quienes realizar comparaciones. De todos modos, los resultados sugieren ante la falta de diferencias, que medir este parámetro en animales sin estimular es suficiente para poder obtener información.

## **Capacitación y diferencia entre observadores para la proporción de animales con estornudo e índice de estornudo**

### **Proporción de animales con estornudo**

El acuerdo entre los observadores para la detección del estornudo (presencia o ausencia) en las 3 granjas estudiadas fue alto ( $\kappa = 0,82$ )-tabla 13-. El grado de acuerdo en la granja A fue el más alto, con un valor de  $\kappa$  de 0,85 respecto a las granjas B y C, en las cuales los valores de  $\kappa$  fueron bajos (0,74 y 0,49 respectivamente)-tabla 14. Respecto a la edad de los animales, hubo un mayor acuerdo entre observadores ( $\kappa=0,83$ )-tabla 15- a las 4 semanas de edad. El bajo acuerdo observado en las granjas B y C y en animales de 6, 8 y 10 semanas de edad, pueden estar influenciados por el elevado número de cerdos que presentaron el signo clínico (tablas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12), ya que puede darse el caso de que el acuerdo observado sea alto y en cambio, se obtenga un valor de  $\kappa$  próximo a cero, debido a que la magnitud del estadístico depende, de la prevalencia del fenómeno observado (Petersen *et al.*, 2004).

Varios trabajos, han abordado la importancia de la capacitación previa de los observadores, en relación al grado de acuerdo para la observación de distintos signos clínicos en diferentes especies de animales, como por ejemplo la condición corporal, lesiones de piel, cojeras, signos nerviosos, respiratorios, digestivos, hernia umbilical y mordedura de cola (Baadsgaard *et al.*, 2003; Petersen *et al.*, 2004; Thomsen *et al.*, 2006; Pedersen *et al.*, 2011). Algunos de ellos han señalado la importancia de la capacitación del observador previa al estudio

(Petersen *et al.*, 2004; Thomsen *et al.*, 2006). Sin embargo existe controversia dado que a pesar de la capacitación previa o no, los resultados han sido variables. Esto se ve reflejado en el presente estudio en donde el análisis multivariado señaló que el observador 2 registró un 7,89% más de animales con estornudo (Gráfico 3). Este observador era el menos experto de los tres (dato inédito), coincidiendo con De Vet *et al.*, (2003), quienes afirman que la calidad del desempeño de las mediciones depende de la experiencia de las personas que llevan a cabo las mismas.

### **Índice de estornudo**

De igual modo que para la proporción de animales con estornudo, el grado de acuerdo entre observadores para la detección (presencia o ausencia) del índice de estornudo fue alta ( $\kappa = 0,83$ )- tabla 16. También aquí se observó diferencias entre grados de acuerdo según edad de los animales, dado que a las 4 y 6 semanas de edad se registra el valor más alto ( $\kappa = 0,81$  y  $0,80$  respectivamente) tabla 17, mientras que a las 8 y 10 semanas de edad se observan valores de acuerdo bajos ( $\kappa = 0,54$ ) sin embargo estos valores bajos pueden representar un acuerdo observado alto aun con un valor de  $\kappa$  próximo a cero, debido a que la magnitud del estadístico depende, de la prevalencia del fenómeno observado (Petersen *et al.*, 2004).

Al realizar el análisis de correlación de Pearson, se obtuvo una alta correlación entre los observadores, independientemente de la cantidad de estímulos ( $p < 0,001$ ) tabla 18 y 19. Siendo este resultado importante, ya que cualquier observador podría registrar el evento sin necesidad de invertir demasiado tiempo en estimular a los cerdos.

## 6.- CONCLUSIÓN

El protocolo empleado, permitió registrar un comportamiento para los dos parámetros evaluados según la edad de los animales, siendo las 8 semanas de edad, donde se registró la mayor proporción de animales con estornudo, mientras que para el índice de estornudo, el valor más alto se presentó a las 10 semanas de edad, por lo que la combinación de ambos parámetros clínicos permite un mejor seguimiento y una mejor conceptualización del comportamiento del estornudo. Por otro lado, los resultados obtenidos tanto para la cantidad de estímulos realizados, como para el total de corrales inspeccionados, sugieren que se podría simplificar el protocolo debido a que no hubo diferencias entre la observación del estornudo sin estímulo de los animales vs con uno o dos, y al no haber diferencia entre los parámetros analizados respecto a la cantidad de corrales, el encargado de la granja no requeriría ingresar a un número elevado de los mismos para poder registrarlos. Además, este protocolo permitió obtener un muy buen acuerdo entre los observadores para la detección de la proporción de animales con estornudo como así también para el índice de estornudo entre las granjas estudiadas, en animales de diferentes edades y en la cantidad de estímulos. Esto permitiría que cualquier observador previamente capacitado pueda aplicar el protocolo obteniendo valiosa información respecto al comportamiento del estornudo en la granja.

Creemos que el desarrollo y la adaptación de este protocolo clinimétrico es una herramienta muy importante para los encargados de granjas ya que el tiempo empleado para registrar los parámetros clínicos sería menor y podrían registrarse de manera simple.

## 7. - REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Adams, D. R (1990) Epithelium lining the rostral portion of the porcine nasal mucosa. Research in Veterinary Science Vol. 49 No. 1 pp. 61-65.

Aerts, J. M., Jans, P., Halloy, D., Gustin, P., Berckmans, D. (2005). Abelung of cough data from pigs for on-line disease monitoring by sound analysis. Transactions of the American Society of Agricultural Engineers 2005 Vol. 48 No. 1 pp. 351-354.

Ahmadi, M., Moosavi, S. M., Zakeri, S. (2013). Comparison of the effect of honey and diphenhydramine on cough alleviation in 2-5-year-old children with viral upper respiratory tract infection. Journal of Gorgan University of Medical Sciences 2013 Vol. 15 No. 2 pp. Pe8-Pe12, En13, URL <http://www.goums.ac.ir/journal>.

Al Suleimani, M., Ying D., Walker, M. J. (2007). Differential responses to various classes of drugs in a model of allergic rhinitis in guinea pigs. Pulmonary Pharmacology & Therapeutics 21(2):340-8.

Arancibia Ulloa, F.L. (2009). El estornudo del cerdo. [http://www.eldia.com.bo/index.php?cat=162&pla=3&id\\_articulo=5612](http://www.eldia.com.bo/index.php?cat=162&pla=3&id_articulo=5612).

Baadsgaard, N.P., Jørgensen, E. (2003). A Bayesian approach to the accuracy of clinical observations. Preventive Veterinary Medicine. 59, 189–206.

Bahnsen, P. (1993). The application of a clinical index of cough. Proceedings. American Association of Swine Veterinarians pp 701-705.

Barbé, F., Labarque, G., Pensaert, M., Van Reeth, K. (2009). Performance of a commercial Swine influenza virus H1N1 and H3N2 antibody enzyme-linked immunosorbent assay in pigs experimentally infected with European influenza viruses. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 21:88–96.

Brockmeier, S. L., Register, K. B., Magyar, T., Lax, A. J., Pullinger, G. D., Kunkle, R. A. (2002). Role of the dermonecrotic toxin of *Bordetella bronchiseptica* in the pathogenesis of respiratory disease in swine. Infection and Immunity 2002 Vol. 70 No. 2 pp. 481-490

Brown, IH. (2000). The epidemiology and evolution of influenza viruses in pigs. Veterinary Microbiology 74:29–46.

Buddle, J. R., Mercy, A. R., Skirrow, S. Z., Madec, F., Nicholls, R. R. (1997). Epidemiological studies of pig diseases: 1. Use of French protocols for risk factor assessment to predict the health status of Australian herds, Australian Veterinary Journal Vol. 75 No. 4 pp. 274-281.

Cameron, R.D.A., Giles, C.J., Smith, I.M., (1980). The prevalence of *Bordetella bronchiseptica* and turbinate (conchal) atrophy in English pig herds in 1978–1979. Veterinary Record 107:146.

Cameron-Stephen, ID. (1961). Inclusion-body rhinitis of swine. The Australian Veterinary Journal 37:87–91.

Cappuccio, J. A., Pena, L., Dibárbora, M., Rimondi, A., Piñeyro, P., Insarralde, L., Quiroga, M. A., Machuca, M., Craig, M. I., Olivera, V., Chockalingam, A., Perfumo, C. J., Perez, D. R., Pereda, A. (2011). Outbreak of swine influenza in Argentina reveals a non-contemporary human H3N2 virus highly transmissible among pigs. *Journal of General Virology* Vol. 92 No. 12 pp. 2871-2878, DOI 10.1099/vir.0.036590-0, URL <http://vir.sgmjournals.org>.

Carrasco, L., Ramis, G., Gómez-Laguna, J., Quezada, M., Pallarés, F. J. (2009). Differential diagnosis of pig diseases. 3. Respiratory diseases *Journal SUIS* No. 60 pp. 34-46.

Caswell, Jeff L. and Williams Kurt, J. (2007). Respiratory system. *Pathology of Domestic Animals*. fifth Edition pág 523-531 Volumen 2.

Choi, Y. K., Lee J. H., Erickson, G., Goyal, S. M., Joo, H. S., Webster, R. G., Webby, R. J. (2004). H3N2 influenza virus transmission from swine to turkeys, United States. *Emerging Infectious Diseases journal* 10: 2156–2160.

Choi, Y. K., Nguyen, T. D., Ozaki, H., Webby, R. J., Puthavathana, P., Buranathal, C., Chaisingh, A., Auewarakul, P., Hanh, N. T., Ma, S. K., Hui, P. Y., Guan, Y., Peiris, J. S., Webster, R. G. (2005). Studies of H5N1 influenza virus infection of pigs by using viruses isolated in Vietnam and Thailand in 2004. *Journal of Virology* 79: 10821–10825.

Ciacchi-Zanella, J. R., Trombetta, C., Vargas, I., Costa, D. E. M. (2004). Lack of evidence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection in domestic pigs in Brazil. *Ciência Rural* Vol. 34 No. 2 pp. 449-455, DOI 10.1590/S0103-84782004000200018.

Cianci, V., Ferlazzo E., Condino, F., Somma, M. H., Farnarier, G., Labate A., Latella, M. A., Gasparini, S., Branca D., Pucci, F., Vazzana F., Gambardella, A., Aguglia U. (2011). Rating scale for psychogenic nonepileptic seizures: Scale development and clinimetric testing. *Epilepsy & Behavior* 21 (2011) 128–131.

Clair, L.E. (1967). *Anatomy. 2TH Edition Diseases of Swine* pp. 3-37. Union tipografica hispano-americana. Mexico

Dalla Costa, O. A., Lopes, do A. A., Ludke, J. V., Coldebella, A., Pereira de Figueiredo, E. A. (2008). Desempenho, características de carcaça, qualidade da carne e condição sanitária de suínos criados nas fases de crescimento e terminação nos sistemas confinado convencional e de cama sobreposta. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.38, n.8, p.2307-2313.

De Vet, H. C.W., Terwee, C. B., Bouter, L. M. (2003). Current challenges in clinimetrics. *Journal of Clinical Epidemiology* 56, 1137–1141.

De Vleeschauwer, A., Atanasova, K., Van Borm, S., Van Den Berg, T., Rasmussen, T. B., Uttenthal, A., Van Reeth, K. (2009a). Comparative pathogenesis of an avian H5N2 and a swine H1N1 influenza virus in pigs. *PLoS ONE* 4:e6662. doi:10.1371/journal.pone.0006662.

- De Vleeschauwer, A., Van Poucke, S., Braeckmans, D., Doorselaere, J. V., and Van Reeth, K. . (2009b). Efficient transmission of swine-adapted but not wholly avian influenza viruses among pigs and from pigs to ferrets. *The Journal of Infectious Diseases* 200:1884–1892.
- Dee, S. A., Joo, H. S., Polson, D. D., Marsh, W. E. (1997). Evaluation of the effects of nursery depopulation on the profitability of 34 pig farms. *Veterinary Record* 140:498–500.
- Deim, Z., Glávits, R., Biksi, I., Dencso, L., Raczne, A.M. (2006). Inclusion body rhinitis in pigs in Hungary. *Journal Veterinary Record* Vol. 158 No. 24 pp. 832-834, URL <http://www.bvapublications.com>.
- Díaz-Coto, J. F., Monge-Zeledón, P. (2011) Clinimetría, una herramienta indispensable (Clinimetry, an indispensable tool) *Acta Médica Costarricense, Supl.Reuma/7-9*.
- Dibárbora, M., Cappuccio, J., Olivera, V., Quiroga, M., Machuca, M., Perfumo, C., Pérez, D., Pereda, A. (2013). Swine influenza: clinical, serological, pathological, and virological cross-sectional studies in nine farms in Argentina. *Journal Influenza and other Respiratory Viruses* 2013 Vol. 7 No. s4 pp. 10-15.
- Done, J. T. (1955). An “inclusion body” rhinitis of pigs. *Veterinary Record* 67:525–527.
- Donham, k. J. (1991). Association of environmental air contaminants with disease and productivity in swine. *American journal of veterinary research* Vol. 52 No. 10 pp. 1723-1730.
- Donkó, T., Kovács, M., Magyar, T. (2003). The effect of atrophic rhinitis (AR) on the weight-gain of swine. *Journal Agriculturae Conspectus Scientificus (Poljoprivredna Znanstvena Smotra)* Vol. 68 No. 3 pp. 161-164.
- Dorr, P.M., Baker, R.B., Almond, G.W., Wayne, S.R., Gebreyes, W.A., (2007). Epidemiologic assessment of porcine circovirus type 2 coinfection with other pathogens in swine. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 230, 244–250.
- Drummond, J. G., Curtis, S. E., Meyer, R. C . (1981). Effects of atmospheric ammonia on young pigs experimentally infected with *Ascaris suum*. *American Journal of Veterinary Research* 42:969–974.
- Drummond, J. G., Curtis, S. E., Simon, J., Norton. H. W. (1980). *Journal of Animal Science* 50:1085–1091.
- Drummond, J. G., Curtis, S. E., Simon, J. (1978). Effects of atmospheric ammonia on pulmonary bacterial clearance in the young pig. *American Journal of Veterinary Research* 39:211–212.
- Duncan, J. R., Ross, R. F., Switzer, W. P. (1964). Incidence of inclusion-body rhinitis in Iowa swine. *Journals - American Veterinary Medical Association* 144:33–37.
- Dyce, K. M., Sack, W. O., Wensing, C. J. G. (1999). *Textbook of Veterinary Anatomy*. 2° Edition pág. 163-182.
- Edington, N., Plowright, W., Watt, R. G. (1976a). Generalised cytomegalic inclusion disease: Distribution of cytomegalic cells and virus. *Journal of Comparative Pathology* 86:191–202.

Edington, N., Smith, I. M., Plowright, W., Watt, R. G. (1976b). Relationship of porcine cytomegalovirus and *Bordetella bronchiseptica* to atrophic rhinitis in gnotobiotic piglets. *Veterinary Record* 98:42.

Edington, N., Watt, R. G., Plowright, W. (1976c). Cytomegalovirus excretion in gnotobiotic pigs. *Journal of Hygiene (Cambridge)*77:283–290.

Edington, N., Watt, R. G., Plowright, W., Wrathall, A. E., Done, J. T. (1977). Experimental transmission of porcine cytomegalovirus. *Journal of Hygiene (Cambridge)*78:243–251.

Elling, E., Pedersen, K. B. (1983). Atrophic rhinitis in pigs induced by a dermonecrotic type A strain of *Pasteurella multocida*. In *Atrophic Rhinitis of Pigs*. Commission of the European Communities. Report EUR 8643. Edited by Pedersen, NC, eds. Nielsen. Luxembourg, p. 123.

Ensley, S. M. and Osweiler, G. D. (2012). *Toxic Minerals, Chemicals, Plants, and Gases*. 10TH Edition *Diseases of Swine*. Section VI Noninfectious Diseases pp964.

Fablet, C., Marois-Créhan, C., Simon, G., Grasland, B., Jestin, A., Kobisch, M., Madec, F., Rose, N. (2012). Infectious agents associated with respiratory diseases in 125 farrow-to-finish pig herds: A cross-sectional study. *Veterinary Microbiology* 157, 152–163.

Fano, E., Pijoan, C., Dee, S. (2005). Dynamics and persistence of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in pigs. *Canadian Journal of Veterinary Research* 69:223–228.

Farrington, D. O., Switzer, W. P. (1977). Evaluation of nasal culturing procedures for the control of atrophic rhinitis caused by *Bordetella bronchiseptica* in swine. *Journals American Veterinary Medical Association*. Pp 170:34.

Feinstein, A. R., (1987). *Clinimetrics*. Westford, MA: Murray Printing Compan.

Ferrari, S., Silva, M., Guarino, M., Aerts, J. M., Berckmans, D. (2008 a). Cough sound analysis to identify respiratory infection in pigs. *Computers and Electronics in Agriculture* 2008 Vol. 64 No. 2 pp. 318-325, DOI 10.1016/j.compag.2008.07.003.

Ferrari, S., Silva, M., Guarino, M., Berckmans, D. (2008 b). Analysis of cough sounds for diagnosis of respiratory infections in intensive pig farming. *Transactions of the American Society of Agricultural and Biological Engineers* Vol. 51 No. 3 pp. 1051-1055, URL <http://www.asabe.org/>.

Fryer, J. F., Griffiths, P. D., Fishman, J. A., Emery, V. C., Clark, D. A. (2001). Quantitation of porcine cytomegalovirus in pig tissues by PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 39:1155–1556.

Gagne, S., Martineau-Doize, B. (1993). Nasal epithelial changes induced in piglets by acetic acid and by *B. bronchiseptica*. *Journal of Comparative Pathology* 109:71–81.

Garner, M. G., Whan, I. F., Gard, G. P., Phillips, D. (2001). The expected economic impact of selected exotic diseases on the pig industry of Australia. *Revue Scientifique et Technique - Office International des Épizooties* Vol. 20 No. 3 pp. 671-685.

Geppetti, P., Patacchini, R., Nassini, R., Materazzi, S. (2010). Cough: The Emerging Role of the TRPA1 Channel. *Lung* (2010) 188(Suppl 1):S63–S68m DOI 10.1007/s00408-009-9201-3.

Goodwin, R. F. W. (1988). Monitoring for atrophic rhinitis: The problem of higher snout scores. *Veterinary Record* 123:566–568.

Gordon, J. (2011). Clinical approach to nasal discharge (Proceedings). <https://www.google.com.ar/webhp?sourceid=chrome-instant&ion=1&espv=2&ie=UTF-8#>

Grandia, J., Berges, A. C., Falceto, M. V. (2010). Swine respiratory diseases in Aragon (Spain): Economic, pathology, and microbiological study during the year 2008. Proceedings of the 21st International Pig Veterinary Congress, Vancouver, Canada, p. 648.

Guan, Y., Shortridge, K. F., Krauss, S., Li, P. H., Kawaoka, Y., Webster, R. G. (1996). Emergence of avian H1N1 influenza viruses in pigs in China. *Journal of Virology* 70:8041–8046.

Halbur, P. G., Paul, P.S., Meng, X. J., Lum, M. A., Andrews, J. J., Rathje, J. A. (1996a). Comparative pathogenicity of nine US porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) isolates in a five-week-old cesarean-derived, colostrum-deprived pig model. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. Jan; 8(1):11-20.

Halloy, D. J., Bouhet, S., Oswald, I. P., Goret-Nicaise, M., Kobisch, M., Mainil, J., Gustin Pascal, G. (2004). Pathophysiological changes occurring during *Escherichia coli* endotoxin and *Pasteurella multocida* challenge in piglets: relationship with cough and temperature and predictive value for intensity of lesions. *Veterinary Research*. 35, 309–324 309, DOI: 10.1051/vetres:2004012.

Halloy, D. J., Gustin Pascal, G., Bouhet, S., Oswald, I. P. (2005). Oral exposure to culture material extract containing fumonisins predisposes swine to the development of pneumonitis caused by *Pasteurella multocida*. *Toxicology* 213 (2005) 34–44.

Hamel, A.L., Lin, L., Sachvie, C., Grudeski, E., Nayar, G. P. (1999). PCR assay for detecting porcine cytomegalovirus. *Journal of Clinical Microbiology* 37:3767–3768.

Hansen, M.S., Pors, S.E., Jensen, H.E., Bille-Hansen, V., Bisgaard, M., Flachs, E.M., Nielsen, O.L., (2010). An investigation of the pathology and pathogens associated with Porcine Respiratory Disease Complex in Denmark. *Journal of Comparative Pathology* 143, 120–131.

Harms, P.A., Halbur, P.G., Sorden, S.D., (2002). Three cases of porcine respiratory disease complex associated with porcine circovirus type 2 infection. *Journal of Swine Health and Production*. 10, 27–30.

Hartung, J. (2005). Health effects of aerial pollutants at work places in farm animal houses. Book, Increasing work efficiency in agriculture, horticulture and forestry. XXXI CIOSTA-CIGR V Congress Proceedings, Hohenheim, Germany, 19-21 September, 2005 2005 pp. 229-236, URL <http://www.uni-hohenheim.de/ciosta-cigr/>.

Harvey, R. E. (1994). Water consumption in pigs. *Pig Journal* 1994 Vol. 32 pp. 95-98.

Heinen, PP, Van Nieuwstadt, A. P., De Boer-Luijtz, E. A., Bianchi, A. T. (2001). Analysis of the quality of protection induced by a porcine influenza A vaccine to challenge with an H3N2 virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 82:39–56.

Hernández-Molina, G. and Sanchez-Hernández, T. (2013). Clinimetric methods in Sjögren's syndrome. *Semin Arthritis Rheum* 42: 627–639. <http://dx.doi.org/10.1016/j.semarthrit.2012.09.008>.

Higgins, R. J. (1993). Observations on recent changes in pig respiratory disease. *Pig Veterinary Journal* Vol. 31 pp. 82-88.

Hill, B. E., Dip, G. (Physio), Williams, G., Bialocerkowski, A. E. (2011). Clinimetric Evaluation of Questionnaires Used to Assess Activity After Traumatic Brachial Plexus Injury in Adults: A Systematic Review. *Arch. American Congress of Medicine Rehabilitation* 2011; Vol. 92:2082-9.

Hinshaw, V. S., Bean, W. J., Webster, R. G., Easterday, B. C. (1978). The prevalence of influenza viruses in swine and the antigenic and genetic relatedness of influenza viruses from man and swine. *Virology* 84:51–62.

Hinshaw, V. S., Webster, R. G., Bean, W. J., Downie, J., Senne, D. A. (1983). Swine influenza-like viruses in turkeys: potential source of virus for humans?. *Science* 220:206–208.

Van Hirtum, A., Berckman, D. S. (2004). Objective recognition of cough sound as biomarker for aerial pollutants. *Indoor Air* 2004; 14: 10–15. [www.blackwellpublishing.com/ina](http://www.blackwellpublishing.com/ina).

Holyoake, P. K., Mullan, B. P., Cutler, R. S. (1996). Simulation of the economic impact of proliferative enteritis on pig production in Australia. *Australian Veterinary Journal* Vol. 73 No. 3 pp. 89-92, DOI 10.1111/j.1751-0813.1996.tb09983.x.

Jager, H. J., McKinley, T. J., Wood, J. L., Pearce, G. P., Williamson, S. M., Woodger, N., Strugnell, B., Done, S. H., Habermoll, H., Tucker, A. W. (2010). A tool to assess the economic impact of pleurisy in slaughter pigs. *International Pig Veterinary Congress*, p. 191.

Jorsal, S. E., Thomsen, B. L. (1988). A Cox regression analysis of risk factors related to *Mycoplasma suis pneumoniae* reinfection in Danish SPF-herds. *Acta Veterinaria Scandinavica* 1988 pp. 436-437.

Karasin, A. I., Brown, I. H., Carman, S., Olsen, C. W. (2000). Isolation and characterization of H4N6 avian influenza viruses from pigs with pneumonia in Canada. *Journal of Virology* 74:9322–9327.

Karasin, A. I., West, K., Carman, S., Olsen, C. W. (2004). Characterization of avian H3N3 and H1N1 influenza A viruses isolated from pigs in Canada. *Journal of Clinical Microbiology* 42:4349–4354.

Khatri, M., Dwivedi, V., Krakowka, S., Manickam, C., Ali, A., Wang, L., Qin, Z., Renukaradhya, G. J., Lee, C. W. (2010). Swine influenza H1N1 virus induces acute inflammatory immune responses in pig lungs: a potential animal model for human H1N1 influenza virus. *Journal of Virology* 84: 11210–11218.

Khayer, B., Magyar, T., Wehmann, E. (2014). Flagellin typing of *Bordetella bronchiseptica* strains originating from different host species. *Journal Veterinary Microbiology* 2014 Vol. 173 No. 3/4 pp. 270-278.

- Kida, H., Shortridge, K. F., Webster, R. G. (1988). Origin of the hemagglutinin gene of H3N2 influenza viruses from pigs in China. *Virology* 162:160–166. DOI 10.1016/0042-6822(88)90405-9.
- Kim, J., Chung, H.K., Chae, C., (2003). Association of porcine circovirus 2 with porcine respiratory disease complex. *The Veterinary Journal*. 166, 251–256.
- Kim, S. J., Yang, D. S., Kim, N. H., Lee, C. H., Han, J. H. (2011). Pathological lesions of porcine respiratory disease complex in slaughter pigs. *Journal 6th International Symposium on Emerging and Re-emerging Pig Diseases, Barcelona, Spain, 12-15 June* pp. 129.
- Kirkeby, S., Friis, M., Mikkelsen, H. B., Cayé-Thomasen, P. (2011). Bacterial adherence in otitis media: determination of N-acetylgalactosamine (GalNAc) residues in the submucosal glands and surface epithelium of the normal and diseased Eustachian tube. *Microbial Pathogenesis*; 51(1-2):48-57. doi: 10.1016/j.micpath.2011.03.008.
- Klaas, I. C., Rousing, T., Fossing, C., Hindhede, J. and Sørensen, J. T. (2003). Is lameness a welfare problem in dairy farms with automatic milking system? *Animal Welfare*, 12: 599-603.
- Klaas, I.C., Enevoldsen, C., Vaarst, M., Houe, H., (2004). Systematic clinical examinations for identification of latent udder health types in Danish dairy herds. *Journal of Dairy Science*. 87 (5), 1217–1228.
- Kritas, S. K., Pensaert, M. B., Nauwynck, H. J., Kyriakis, S. C. (1999). Neural invasion of two virulent Suid Herpesvirus 1 strains in neonatal pigs with or without maternal immunity. *Veterinary Microbiology* Vol. 69 No. 3 pp. 143-156.
- Kuehn, N.F. (2013). *North American Small Animal Formulary, 10th Edition*. North American Compendiums.
- Kumar, S., Singh, B. R., Bhardwaj, M., Singh, V. (2014). Occurrence of *Bordetella* infection in pigs in northern India. *International Journal of Microbiology* 2014 Vol. 2014 pp. Article ID 238575
- Kyriakis, C. S., Brown, I. H., Foni, E., Kuntz-Simon, G., Maldonado, J., Madec, F., Essen, S. C., Chiapponi, C., Van Reeth, K. (2011). Virological surveillance and preliminary antigenic characterization of influenza viruses in pigs in five European countries from 2006 to 2008. *Zoonoses Public Health* 58:93–101.
- Landolt, G. A., Karasin, A. I., Phillips, L., Olsen, C. W. (2003). Comparison of the pathogenesis of two genetically different H3N2 influenza A viruses in pigs. *Journal of Clinical Microbiology* 41:1936–1941.
- Laohasinnarong, D., Winkomen, A., Siangjong, W., Siangjong, P., Sahakitpinyo, M., Kaeoket, K. (2008). Comparative evaluation of single shot *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccines under Field Conditions on pig performances. *Proceedings, The 15th Congress of Federation of Asian Veterinary Association* 27-30. Bangkok, Thailand (FAVA - OIE Joint Symposium on Emerging Diseases).
- Lappin, M. R. (2001). Sneezing and nasal discharge initial diagnostic plan. *Feline Internal Medicine Secrets (Veterinary)* pp 1-3.

- Larsen, D. L., Karasin, A., Zuckermann, F., Olsen, C. W. (2000). Systemic and mucosal immune responses to H1N1 influenza virus infection in pigs. *Veterinary Microbiology* 74:117–131.
- Larsen, T., Møller, G., Bellio, R., (2001). Evaluation of clinical and clinical chemical parameters in periparturient cows. *Journal of Dairy Science*. 84 (7), 1749–1758.
- Leon, E. A., Madec, F., Taylor, N. M., Kobisch, M. (2001). Seroepidemiology of *Mycoplasma hyopneumoniae* in pigs from farrow-to-finish farms. *Veterinary Microbiology* 78, 331±341.
- Leuwerke, B., Kitikoon, P., Evans, R., Thacker, E. (2008). Comparison of three serological assays to determine the cross-reactivity of antibodies from eight genetically diverse U.S. swine influenza viruses. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 20:426–432.
- Lium, B. (2002). Respiratory diseases of pigs. *Journal Norsk Veterinærtidsskrift* Vol. 114 No. 2 pp. 191-198 Additional Title Information Helse og sjukdom hos gris.
- Loeffen, W. L., Kamp, E. M., Stockhofe-Zurwieden, N., Van Nieuwstadt, A. P., Bongers, J. H., Hunneman, W. A., Elbers, A. R., Baars, J., Nell, T., Van Zijderveld, F. G. (1999). Survey of infectious agents involved in acute respiratory disease in finishing pigs. *Veterinary Record* 145:123–129.
- Lu Cheng., Jin Xin., Yang YongJie. (2003). Application of multiplex PCR technique in diagnosis of infectious atrophic rhinitis in pigs. *Journal Chinese Journal of Veterinary Medicine* Vol. 39 No. 12 pp. 7-9.
- Ludwig, S., Hausteiner, A., Kaleta, E. F., Scholtissek, C. (1994). Recent influenza A (H1N1) infections of pigs and turkeys in northern Europe. *Virology* 202: 281–286.
- Maes, D., Deluyker, H., Verdonck, M., Castryck, F., Miry, C., Vrijens, B., Verbeke, W., Viaene, J., De Kruif, A. (1999). Effect of vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae* in pig herds with an all-in/all-out production system. *Vaccine* 17, 1024±1034.
- Maes, D., Meyns, T., Dewulf, J., Vicca, J., Haesebrouck, F., De Kruif, A. (2005). Quantification of the spread of *Mycoplasma hyopneumoniae* in nursery pigs using transmission experiments. *Preventive Veterinary Medicine*. 2004 Dec 15;66(1-4):265-75.
- Markowska-Daniel, I., Jabłon'ski, A., Nowak, A., Stepniewska, K., Pejsak, Z. (2009). Elaboration of a PCR test for the detection of *Pasteurella multocida* dermonecrotogenic strains in nasal swabs of pigs. *Journal Medycyna Weterynaryjna* Vol. 65 No. 8 pp. 542-545.
- Martineau-Doize, B., Larochelle, R., Martineau, G. P. (1991a). Nasal mucosa of the piglet: Risk factor for atrophic rhinitis. 23 Journées de la Recherche Porcine en France, Paris, 5, 6, 7, febr. Institut Technique Porc. MNE, pp. 175–178.
- Martineau-Doize, B., Trepanier, H., Martineau, G. P. (1991b). Histological changes in the nasal ventral conchae of piglets infected with *Bordetella bronchiseptica*. *Canadian Journal of Veterinary Research* 55:42–49.

- Marx, R. G., Bombardier, C., Hogg-Johnson, S., and Wright, J. G. (1999). Clinimetric and Psychometric Strategies for Development of a Health Measurement Scale. *Journal of Clinical Epidemiology* Vol. 52, No. 2, pp. 105–111.
- Mettenleiter, T. C. (2000). Aujeszky's disease (pseudorabies) virus: the virus and molecular pathogenesis - state of the art, June 1999. *Veterinary Research* Vol. 31 No. 1 pp. 99-115.
- Morris, C. R., Gardner, I. A., Hietala, S. K., and Carpenter, T. E. (1995). Enzootic Pneumonia: Comparison of Cough and Lung Lesions as Predictors of Weight Gain in Swine. *Canadian Journal of Veterinary Research* 1995; 59: 197-204.
- Müller, T., Conraths, F. J., Hahn, E. C. (2000). Pseudorabies virus infection (Aujeszky's disease) in wild swine. *Reviews of infectious diseases* 2:27–34.
- Müller, T., Hahn, E. C., Tottewitz, F., Kramer, M., Mettenleiter, T. C., Freuling, C. (2011). Pseudorabies virus in wild swine: A global perspective. *Archives of Virology* 156:1691–1705.
- Nathues, H., Spergser, J., Rosengarten, R., Kreienbrock, L., Beilage E. G. (2012). Value of the clinical examination in diagnosing enzootic pneumonia in fattening pigs. *The Veterinary Journal* 193 443–447.
- Nauwynck, H. J. (1997). Functional aspects of Aujeszky's disease (pseudorabies) viral proteins with relation to invasion, virulence and immunogenicity. *Veterinary Microbiology* Vol. 55 No. 1/4 pp. 3-11.
- Neumann, E. J., Kliebenstein, J. B., Johnson, C. D., Mabry, J. W., Bush, E. J., Seitzinger, A. H., Green, A. L., Zimmerman, J. J. (2005). Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome on swine production in the United States. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 227:385–392.
- Neumann, R., Mehlhorn, G., Leonhardt, W., Kastner, P., Willig, R., Schimmel, D., Johannsen, U. (1987a). Experiments on the effect on unweaned piglets of prolonged exposure to toxic aerogenic gases, using ammonia of differing concentrations. I. Clinical picture of ammonia-exposure with experimental *Pasteurella multocida* infection with and without thermos-motor stress. *Journal of Veterinary Medicine, B (Infectious Diseases, Immunology, Food Hygiene, Veterinary Public Health)* Vol. 34 No. 3 pp. 183-196.
- Neumann, R., Mehlhorn, G., Buchholz, I., Johannsen, U., Schimmel, D. (1987b). Experimental studies on the effect of a chronic aerogenous toxic gas exposure of unweaned piglets to ammonia of various concentrations. 2. Cell-mediated and humoral immune response to experimental *Pasteurella multocida* infection with and without thermo-motor stress. *Journal of Veterinary Medicine, B (Infectious Diseases, Immunology, Food Hygiene, Veterinary Public Health)* Vol. 34 No. 4 pp. 241-253.
- Nielsen, N. C. (1983). Prevalence and economic significance of atrophic rhinitis. In *Atrophic Rhinitis of Pigs*. KB Pedersen, NC Nielsen, eds. *Comm Eur Communities Rep EUR 8643 EN*. Luxembourg, p. 35.
- Olsen, C. W., Carey, S., Hinshaw, L., Karasin, A. I. (2000). Virologic and serologic surveillance for human, swine and avian influenza virus infections among pigs in the north-central United States. *Archives of Virology* 145: 1399–1419.

- Olsen, C. W., Karasin, A., Erickson, G. (2003). Characterization of a swine-like reassortant H1N2 influenza virus isolated from a wild duck in the United States. *Virus Research* 93:115–121.
- Olsen, C. W., Karasin, A. I., Carman, S., Li, Y., Bastien, N., Ojkic, D., Alves, D., Charbonneau, G., Henning, B. M., Low, D. E., Burton, L., Broukhanski, G. (2006). Triple reassortant H3N2 influenza A viruses, Canada, 2005. *Emerging Infectious Diseases journal* 12: 1132–1135.
- Opriessnig, T., Giménez-Lirola, L. G., Halbur, P. G. (2011). Polymicrobial respiratory disease in pigs. *Journal Animal Health Research Reviews* Vol. 12 No. 2 pp. 133-148, DOI 10.1017/S1466252311000120.
- Orr, J. P., Althouse, E., Dulac, G. C., Durham, J. P. K. (1988). Epizootic infection of a minimal disease swine herd with a herpesvirus. *The Canadian Veterinary Journal* 29:45–50.
- Parada, J., Carranza, A., Fantoni, G., Busso, J. J., Milanesio, L., Chanique, A., Pelliza, B., Ambrogi, A.. (2010). Sistema de monitoreo de rinitis atrofica en una granja porcina. Memoria del X congreso nacional de producción porcina S20 pp 264. Salta-Argentina
- Pedersen, K. B., Nielsen, N. C., eds. (1983). Atrophic Rhinitis of Pigs. *Comm Eur Communities Rep EUR 8643 EN*. Luxembourg, p. 205.
- Pedersen, K. S., Holyoake P., Stege, H., Nielsen, J. P. (2011). Observations of variable inter-observer agreement for clinical evaluation of faecal consistency in grow-finishing pigs. *Preventive Veterinary Medicine* 98. 284–287.
- Peiris, J. S., Guan, Y., Markwell, D., Ghose, P., Webster, R. G., Shortridge, K. F. (2001). Cocirculation of avian H9N2 and contemporary "human" H3N2 influenza A viruses in pigs in southeastern China: potential for genetic reassortment?. *Journal of Virology* 75: 9679–9686.
- Pejsak, Z., Stadejek, T., Markowska-Daniel, I. (1997). Clinical signs and economic losses caused by porcine reproductive and respiratory syndrome virus in a large breeding farm. *Veterinary Microbiology* 55:317–322.
- Petersen, H. H., Hassing, A.G., Nielsen, E. O., Bækbo, P., Nielsen, J. P. (2002). Prevalence of clinical signs in commercial Danish finisher herds. *Veterinary Record*, 2002, 162, 12, pp 377-382, 24 ref.
- Petersen, H. H., Enøe, C., Nielsen, E. O. (2004). Observer agreement on pen level prevalence of clinical signs in finishing pigs. *Preventive Veterinary Medicine*, 64, 2/4, pp 147-156, 37 ref.
- Pomeranz, L., Reynolds, A. E., Hengartner, C. J. (2006). Molecular biology of pseudorabies virus: impact on neurovirology and veterinary medicine. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* Vol. 69 No. 3 pp. 462-500.
- Pomorska-Mól, M., Urbaniak, K., Markowska-Daniel, I. (2011). Porcine acute phase protein response to experimental infection with *Bordetella bronchiseptica*. *Journal Bulletin of the Veterinary Institute in Puławy*. Vol. 55 No. 3 pp. 371-375, URL <http://www.piwet.pulawy.pl>.

- Pósa, R., Donkó, T., Bogner, P., Kovács, M., Repa, I., Magyar, T. (2011). Interaction of *Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella multocida*, and fumonisin B1 in the porcine respiratory tract as studied by computed tomography. *The Canadian Journal of Veterinary Research* 2011;75:176–182.
- Ramakrishnan, M. A., Wang P., Abin, M., Yang M., Goyal, S. M., Gramer, M. R., Redig, P., Fuhrman, M. W., and Sreevatsan, S.(2010). Triple Reassortant Swine Influenza A (H3N2) Virus in Waterfowl. *Emerging Infectious Diseases journal* 16:728–730.
- Ramirez Benavides, G. F. (2005). *Manual de semiología clínica veterinaria*. Primera edición. Pp13.
- Richt, J. A., Lager, K. M., Janke, B. H., Woods, R. D., Webster, R. G., Webby, R. J. (2003). Pathogenic and antigenic properties of phylogenetically distinct reassortant H3N2 swine influenza viruses cocirculating in the United States. *Journal of Clinical Microbiology* 41: 3198–3205.
- Rohn, M., Tenhagen, B. A., Hofmann, W. (2004). Survival of dairy cows after surgery to correct abomasal displacement: 2. Association of clinical and laboratory parameters with survival in cows with left abomasal displacement. *Journal of veterinary medicine. A, Physiology, pathology, clinical medicine*. Aug; 51(6):300-5.
- Romero, C. H., Meade, P. N., Shultz, J. E., Chung, H. Y., Gibbs, E. P., Hahn, E. C., Lollis, G. (2001). Venereal transmission of pseudorabies viruses indigenous to feral swine. *Journal of Wildlife Diseases* Vol. 37 No. 2 pp. 289-296.
- Rondhuis, P. R., De Jong, M. F., Schep, J. (1980). Indirect fluorescence antibody studies of porcine cytomegalovirus infections in the Netherlands. *Tijdschr Diergeneeskd* 105 (suppl 2):56–68.
- Rose, N., Hervé, S., Eveno, E., Barbier, N., Eono, F., Dorenlor, V., Andraud, M., Camsusou, C., Madec, F., and Simon, G. (2013). Dynamics of influenza A virus infections in permanently infected pig farms: evidence of recurrent infections, circulation of several swine influenza viruses and reassortment events. *Veterinary Research*, 44:72 <http://www.veterinaryresearch.org/content/44/1/72>.
- Rutter, J. M. (1981). Quantitative observations on *Bordetella bronchiseptica* infection in atrophic rhinitis of pigs. *Veterinary Record* 108:451–454.
- Sales, T. P., Soares, P., Brito, W. M., . (2010). Cost of *Mycoplasma hyopneumoniae* outbreak in Brazil. *International Pig Veterinary Society*, p. 620.
- Saliki, J. T., Rodger, S. J., Eskew, G. (1998). Serosurvey of selected viral and bacterial diseases in wild swine from Oklahoma. *Wildlife Disease Association* 34:834–838.
- Scheidt, A. B., Mayrose, V. B., Van Alstine, W. G., Clark, L. K., Cline, T. R., Einstein, M. E. (1994). The effects of vaccinating pigs for *mycoplasmal pneumonia* in a swine herd affected by enzootic pneumonia. *Swine Health and Production* Vol. 2 No. 1 pp. 7-11.
- Shi, W. F., Gibbs, M. J., Zhang, Y. Z., Zhang, Z., Zhao, X. M., Jin, X., Zhu, C. D., Yang, M. F., Yang, N. N., Cui, Y. J., Ji, L. (2008). Genetic analysis of four porcine avian influenza viruses isolated from Shandong, China. *Archives of Virology* 153: 211–217.

Silva, M., Ferrari, S., Costa, A., Aerts, J. M., Guarino, M., Berckmans, D. (2008). Cough localization for the detection of respiratory diseases in pig houses. *computers and electronics in agriculture* 64: 286–292.

Smith, I. M., Giles, C. J., Baskerville, A. J. (1982). The immunisation of pigs against experimental infection with *Bordetella bronchiseptica*. *Veterinary Research* 110:488.

Smith, K. C. (1997). Herpesviral abortion in domestic animals. *The Veterinary Journal* 153:253–268.

Sørensen, V., Jorsal, S. E., Mousing, J. (2006). Diseases of the respiratory system. In: Straw, B. Zimmermann, W. D'Allaire, S. Taylor, D.J. (Eds.), *Diseases of Swine*. 9th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, pp. 149–177.

Stärk K. D., Nevel, A. (2009). Strengths, weaknesses, opportunities and threats of the pig health monitoring systems used in England. *Veterinary Record*.17;165 (16):461-5.

Stärk, K. D. C., Keller, H., Eggenberger, E. (1992). Risk factors for the reinfection of specific pathogen-free pig breeding herds with enzootic pneumonia. *Veterinary Record* Vol. 131 No. 23 pp. 532-535.

Steen, A. (2001). Field study of dairy cows with reduced appetite in early lactation: clinical examinations, blood and rumen fluid analyses. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 42(2):219-28.

Suarez, D. L., Woolcock, P. R., Bermudez, A. J., Senne, D. A. (2002). Isolation from turkey breeder hens of a reassortant H1N2 influenza virus with swine, human, and avian lineage genes. *Avian Diseases* 46:111–121.

Swenson, S. L., Foley, P. L., Olsen, C. W. (2008). 2.8.8 Swine influenza. In *OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*, 6th ed. Paris, France: OIE, pp. 1128–1138.

Takano, R., Nidom, C. A., Kiso, M., Muramoto, Y., Yamada, S., Shinya, K., Sakai-Tagawa, Y., Kawaoka, Y. (2009). A comparison of the pathogenicity of avian and swine H5N1 influenza viruses in Indonesia. *Archives of Virology* 154: 677–681.

Tang X. C., Wu Bin., Chen, HuanChun. (2004). Establishment and application of a PCR method of detection for swine *Pasteurella multocida*. *Journal Chinese Journal of Veterinary Science and Technology* 2004 Vol. 34 No. 2 pp. 46-48.

Tang, Y., Lee, C. W., Zhang, Y., Senne, D. A., Dearth, R., Byrum, B., Perez, D. R., Suarez, D. L., Saif, Y. M. (2005). Isolation and characterization of H3N2 influenza A virus from turkeys. *Avian Diseases* 49:207–213.

Tellier, R. (2009). Aerosol transmission of influenza A virus: a review of new studies. *Journal of The Royal Society Interface* 6:S783–S790.

Terebuh, P., Olsen, C. W., Wright, J., Klimov, A., Karasin, A., Todd, K., Zhou, H., Hall, H., Xu, X., Kniffen, T., Madsen, D., Garten, R., Bridges, C. B. (2010). Transmission of influenza A viruses between pigs and people, Iowa, 2002–2004. *Influenza Other Respir Viruses* 6:387–396.

- Thacker, E. L., Thacker, B. J., Janke, B. H. (2001). Interaction between *Mycoplasma hyopneumoniae* and Swine Influenza Virus. *Journal of Clinical Microbiology*. 39(7):2525-30.
- Thacker, E. L., Holtkamp, D. J., Khan, A. S., Brown, P. A., Draghia-Akli, R. (2006). Plasmid-mediated growth hormone-releasing hormone efficacy in reducing disease associated with *Mycoplasma hyopneumoniae* and porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Journal of Animal Science* Vol. 84 No. 3 pp. 733-742.
- Thacker, E.L., (2001). Immunology of the porcine respiratory disease complex. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*. 17, 551–565.
- Thomsen, P. T., Baadsgaard N. P. (2006). Intra- and inter-observer agreement of a protocol for clinical examination of dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine* 75, 133–139.
- López de Ullibarri Galparsoro, I., Pita Fernández, S. (1999). Medidas de concordancia: el índice de Kappa. *Cad Aten Primaria* 1999; 6: 169-171. Coruña (España)
- Ural, K., Ulutas, B., Kirkan, S., Gultekin, M., Parin, U. (2011). Florfenicol therapy during natural *Mannheimia haemolytica* infection in Sakiz sheep. *Acta Scientiae Veterinariae* 2011 Vol. 39 No. 2 pp. 961, URL <http://www.ufrgs.br/actavet/39-2/PUB%20961.pdf>.
- Urbain, B., Gustin, P., Charlier, G., Coignoul, F., Lambotte, J. L., Grignon, G., Foliguet, B., Vidic, B., Beerens, D., Prouvost, J. F., Ansay, M. (1996). A morphometric and functional study of the toxicity of atmospheric ammonia in the extrathoracic airways in pigs. *Veterinary Research Communications* Vol. 20 No. 4 pp. 381-399.
- Urbain, B., Gustin, P., Prouvost, J.F., Ansay, M. (1994). Quantitative assessment of aerial ammonia toxicity to the nasal mucosa by use of the nasal lavage method in pigs. *American Journal of Veterinary Research* Vol. 55 No. 9 pp. 1335-1340.
- Van Reeth, K., Gregory, V., Hay, A., Pensaert, M. (2003). Protection against a European H1N2 swine influenza virus in pigs previously infected with H1N1 and/or H3N2 subtypes. *Vaccine* 21: 1375–1381.
- Van Reeth, K., Nauwynck, H. J., Pensaert, M. B. (1998). Bronchoalveolar interferon-alpha, tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1, and inflammation during acute influenza in pigs: a possible model for humans?. *Journal of Infectious Diseases* 177: 1076–1079.
- Van Reeth, K., Pensaert, M. (1994). Prevalence of infections with enzootic respiratory and enteric viruses in feeder pigs entering fattening herds. *Veterinary Research* 135:594–597.
- Van Alstine, (2012). Respiratory System. *Diseases of Swine* 10 TH Edition pp 348-362.
- Vilalta, C., Alcalá, T., López-Jiménez, R., Nofrarías, M., López-Soria, S., Espin, S., Varela, T., Fraile, L. (2012). Clinical efficacy of acetylsalicylic acid as an adjunct to antibacterial treatment of porcine respiratory disease complex. *Journal of Swine Health and Production* 2012 Vol. 20 No. 1 pp. 10-16, URL <http://www.aasv.org>.

Vincent, A. L., Lager, K. M., Harland, M., Lorusso, A., Zanella, E., Ciacci-Zanella, J. R., Kehrl, M. E., Klimov, A. (2009). Absence of 2009 pandemic H1N1 influenza A virus in fresh pork. *PLoS ONE* 4: e8367.

Wabacha, J. K., Mulei, C. M. (2000). The economic impact of progressive atrophic rhinitis in grower-finisher pigs in a medium-scale piggery in Kenya. *Journal Bulletin of Animal Health and Production in Africa* 2000 Vol. 48 No. 3 pp. 189-191.

Wellenberg, G.J., Bouwkamp, F.T., Wolf P.J. , Swart, W.A.J.M., Mombarg, M.J., de Gee, A.L.W., (2010). A study on the severity and relevance of porcine circovirus type 2 infections in Dutch fattening pigs with respiratory diseases. *Veterinary Microbiology*. 142, 217–224.

Widen, B. F., Lowings, J. P., Belak, S., Banks, M. (1999). Development of a PCR system for porcine cytomegalovirus detection and determination of the putative partial sequence of its DNA polymerase gene. *Epidemiology and Infection* 123:177–180.

Wood, G. W., Banks, J., Brown, I. H., Strong, I., Alexander, D. J. (1997). The nucleotide sequence of the HA1 of the haemagglutinin of an HI avian influenza virus isolate from turkeys in Germany provides additional evidence suggesting recent transmission from pigs. *Avian Pathology* 26: 347–355.

Woolley, L. K., Fell S., Gonsalves J. R., Walker, M. J., Djordjevic, S. P., Jenkins, C., Eamens, G.J. (2012). Evaluation of clinical, histological and immunological changes and qPCR detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in tissues during the early stages of mycoplasmal pneumonia in pigs after experimental challenge with two field isolates. *Veterinary Microbiology*; 161 (1-2):186-95. doi: 10.1016/j.vetmic.2012.07.025.

Wright, P. F., Neumann, G., Kawaoka, Y. (2007). Orthomyxoviruses. In DM Knipe, PM Howley, eds. *Fields Virology*, 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, pp. 1691–1740.

Wright, S. M., Kawaoka, Y., Sharp, G. B., Senne, D. A., Webster, R. G. (1992). Interspecies transmission and reassortment of influenza A viruses in pigs and turkeys in the United States. *American Journal of Epidemiology* 136:488–497.

Yang, D., Tamburro, K., Dittmer, D., Cui, X., McVoy, M. A., Hernandez-Alvarado, N., Schleiss, M. R. (2013). Complete genome sequence of pathogenic Guinea pig cytomegalovirus from salivary gland homogenates of infected animals. *Genome Announc.* 2013 Mar 14;1(2):e0005413. doi: 10.1128/genomeA.00054-13.

Yang JinLong., Zhang SuHui., Liu ZuoHua., Yang Rui., Huang Yong., Wen Ming. (2012). Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification assay for the rapid detection of porcine cytomegalovirus under field conditions. *Journal Virology* Vol. 9 No. 321 pp. URL <http://www.virologyj.com/content/9/1/321>.

Yokomizo, Y., Shimizu, T. (1979). Adherence of *Bordetella bronchiseptica* to swine nasal epithelial cells and its possible role in virulence. *Research in Veterinary Science* 27:15.

Yoon, K. J., Edington, N. (2006). Porcine cytomegalovirus. In BE Straw, J Zimmerman, S D'Allaire, DJ Taylor, eds. Diseases of Swine, 9th ed. Ames, IA: Blackwell Publishing Company, pp. 323–329.

Yoon, K-J., Henry, S. C., Zimmerman, J. J., Platt, K. B. (1996). Isolation of porcine cytomegalovirus (PCMV) from a swine herd with concurrent infection of PRRS virus. Veterinary medicine 91:779–784.

Yordanov, S., Dimitrova, A., Pepovich, R., Manov, V. (2012). Clinical signs, forms of manifestation and pathomorphological changes by the circoviral disease in pigs (PCVD). Journal Sbornik dokladi ot nauchnata konferentsiya: Traditsii i s'vrenmennost v'v veterinarnata meditsina pp. 231-240.

75223

72