



ORIGINAL

Detección serológica de *Brucella suis*, virus de influenza y virus de la enfermedad de Aujeszky en criaderos porcinos familiares de menos de 100 madres en Argentina



Marina Dibarbora^{a,b,1}, Javier A. Cappuccio^{a,b,c,*,1}, María N. Aznar^d,
Fernando A. Bessone^e, Hernán Piscitelli^e, Ariel J. Pereda^{b,d} y Daniel R. Pérez^f

^a Instituto de Virología, CICVyA, INTA, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina

^b CONICET, CABA, Argentina

^c Cátedra de Clínica de Grandes Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP, La Plata, Buenos Aires, Argentina

^d Instituto de Patobiología, CICVyA, INTA Hurlingham, Buenos Aires, Argentina

^e Grupo Salud, EEA Marcos Juárez, INTA, Marcos Juárez, Córdoba, Argentina

^f Poultry Diagnostic and Research Center, College of Veterinary Medicine, University of Georgia, Athens, EE. UU.

Recibido el 7 de junio de 2016; aceptado el 7 de septiembre de 2016

Disponible en Internet el 18 de marzo de 2017

PALABRAS CLAVE

Influenza;
Brucelosis;
Serología;
Aujeszky;
Argentina;
Pequeños productores

Resumen Los criaderos porcinos de menos de 100 madres representan más del 99% de los de todo el país; sin embargo, existen escasos reportes sobre su situación sanitaria y productiva. Se recabó información productiva y se tomaron muestras para detectar anticuerpos contra *Brucella suis* (Bs), virus de la enfermedad de Aujeszky (VA) y virus de influenza (VI) en 68 establecimientos de menos de 100 madres ubicados en la región norte, centro y sur del país. El 80% de los establecimientos fueron positivos al VI H1 pandémico 2009, el 11% al H3 clúster 2, mientras que el 11,7% presentó anticuerpos contra el VA y el 6% contra Bs. Ninguno de los productores conocía los factores de riesgo para la transmisión de enfermedades del cerdo al humano. El 47% compra sus reproductores a pares o en ferias. En lo que respecta a normas de bioseguridad, solo el 16% de los establecimientos tenía cerco perimetral y el 37% de las granjas contaba con asesoramiento veterinario. Los resultados de este estudio demuestran que la caracterización productiva y el relevamiento sanitario son de suma importancia para mejorar la productividad y reducir el riesgo de

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: cappuccio.javier@inta.gob.ar (J.A. Cappuccio).

¹ Estos autores participaron de manera igualitaria en la redacción del presente trabajo.

transmisión de enfermedades. El conocimiento de la situación sanitaria y de los factores de riesgo es necesario para conseguir un mejor control y la erradicación de enfermedades en sistemas de baja tecnificación. Se deberían llevar a cabo estudios más representativos a nivel país para detectar los agentes circulantes y, sobre la base de esta información, implementar medidas de prevención y control.

© 2017 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

KEYWORDS

Influenza;
Brucellosis;
Aujeszky's disease;
Serology;
Argentina;
Small swine holders

Serological detection of *Brucella suis*, influenza virus and Aujeszky's disease virus in backyard and small swine holders in Argentina

Abstract Farmers raising less than 100 sows represent more than 99% of swine producers in Argentina, although little is known about their sanitary status and productive characteristics in the country.

Sanitary and productive information was obtained. Furthermore, samples for serological studies were taken to detect antibodies against *Brucella suis* (Bs), *Aujeszky's disease virus* (AV) and *influenza virus* (IV) in 68 backyard and small producers with less than 100 sows located in the north, central and south regions of Argentina. Antibodies against H1 pandemic were detected in 80% of the farms while 11%, 11.7% and 6.0% of the producers were positive to influenza H3 cluster 2, AV and Bs, respectively. None of the producers was aware of the risk factors concerning the transmission of diseases from pigs to humans. A percentage of 47% of them buy pigs for breeding from other farmers and markets. With regard to biosecurity measures, only 16% of the farms had perimeter fences. The results of this study demonstrate that productive characterization and disease surveys are important to improve productivity and to reduce the risk of disease transmission among animals and humans. The study of sanitary status and risk factors is necessary for better control and eradication of diseases in backyard or small producers. More representative studies at country level should be carried out to detect the pathogen that circulate and, with this knowledge, to implement prevention and control measures.

© 2017 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

Desde hace algunos años, la producción porcina nacional se encuentra en crecimiento, tanto en establecimientos confinados de gran escala como en los de pequeña escala. Estimaciones del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) indican que las unidades de producción porcina de hasta 100 madres constituyen el 99,1% de los establecimientos y comprenden al 73,89% del total de cerdas del país (de hasta 50 madres: 97,3 y 61,07%, respectivamente)⁹. Este estrato productivo se caracteriza a nivel mundial por el escaso conocimiento sobre prevención y control de enfermedades por parte de los productores, la escasa aplicación de normas de bioseguridad y de asistencia técnica, tanto oficial como privada, el intercambio de animales entre establecimientos sin control sanitario y el contacto estrecho entre el productor y el cerdo, con sus excreciones y secreciones^{6,10-12}. Por lo tanto, este grupo de productores significa un riesgo para el control y la erradicación de algunos agentes infecciosos.

A pesar de su importancia relativa a nivel mundial, sobre todo en países o estratos sociales de ingresos bajos o medios^{6,10,11}, son pocos los trabajos publicados en el país

o en la región sobre la situación sanitaria de los productores familiares o de traspatio^{7,10,17,21,23}.

Entre los agentes que se supone que circulan en este tipo de sistemas productivos en Argentina, se pueden mencionar a *Brucella suis* (Bs), al virus de la influenza (VI) A y al virus de la enfermedad de Aujeszky (VA); los 2 primeros son agentes con potencial zoonótico.

Si bien existe el Registro Nacional de Establecimientos Oficialmente Libres de Brucelosis Porcina¹⁹, este registro es obligatorio solo para aquellos establecimientos que comercializan reproductores o material reproductivo porcino. Se desconoce cuál es la prevalencia de esta zoonosis en los establecimientos que no comercializan material genético. Una situación similar se presenta respecto de la VA, cuyo Programa de Control y Erradicación abarca, hasta el momento, los establecimientos de más de 100 madres¹⁸. En lo que respecta a influenza, si bien es endémica en nuestro país desde 2009 y los estudios de caracterización filogenética realizados con los virus aislados muestran su estrecha relación con virus humanos, estos estudios fueron realizados en granjas de más de 500 madres y altamente tecnificadas^{2,4,15}.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la circulación de Bs, VI y VA en criaderos porcinos de baja tecnificación o de producción familiar y con menos de 100 madres. Como obje-

tivo secundario se planteó describir algunas medidas básicas de manejo sanitario y productivo de los establecimientos visitados.

Materiales y métodos

Selección de establecimientos

Se realizó un relevamiento sobre el estrato de pequeños productores y productores familiares de cerdos pertenecientes a 3 regiones del país: norte, centro y sur. El muestreo fue no aleatorio, por conveniencia; el criterio de selección de las granjas fue la accesibilidad a los establecimientos a raíz de su relación con las Agencias de Extensión Rural (AER) del Instituto Nacional de Tecnología Agroalimentaria (INTA), localizadas en las mencionadas regiones. La relación entre las AER y los productores no implicaba que dichos establecimientos fuesen asesorados por profesionales formados en producción o sanidad porcina. Tomando como epicentro una AER, se seleccionaron establecimientos con menos de 100 madres localizados en un radio de 20 km.

Se realizó una encuesta dirigida al propietario/encargado de las granjas con el fin de obtener información acerca de algunas medidas básicas de bioseguridad y de manejo sanitario y productivo. En estas encuestas se consultó sobre distancia con otras granjas, presencia de alambrados perimetrales, sistema de cuarentena, procedencia de los animales, controles sanitarios rutinarios, vacunaciones, medicaciones rutinarias, flujo de producción, datos productivos generales (nacidos vivos, partos por año, peso a la venta, etc.). Posteriormente, las granjas fueron categorizadas según:

- Ubicación.
- Sistema de producción (a campo, confinado total, confinado parcial).
- Finalidad de la producción (cabaña, ciclo completo, engordador, cría de lechones).
- Procedencia de los animales.

Obtención de muestras

Se extrajo sangre de la vena cava craneal; esta se centrifugó a 3.000 rpm durante 5 min para obtener el suero. Se tomaron muestras de sangre de 10 hembras adultas no preñadas y padrillos por establecimiento, o según disponibilidad en cada uno de ellos. La selección de hembras no gestantes se basó en el riesgo de aborto y sus consecuencias productivas y económicas para el productor, asociados al estrés de la toma de muestras en las instalaciones en las cuales se realizó el estudio. En caso de disponer de capones de más de 3 meses, se tomaron muestras de 10 de ellos.

Estudios serológicos

Bs. Se aplicaron las siguientes técnicas serológicas: antígeno bufferado en placa (BPA), aglutinación lenta en tubo (SAT)/2-mercaptoetanol (2ME) y polarización fluorescente (FPA). Para todas ellas se utilizaron antígenos comerciales. Se adoptaron los criterios y valores de puntos de corte pro-

Tabla 1 Caracterización de los establecimientos por sistema de producción

Tipo de establecimiento	n	%
Aire libre	17	25
Confinado total	25	37
Confinado parcial	26	38
Total	68	100

puestos por Nielsen et al.¹⁴, para las pruebas rápidas y la FPA, y los parámetros del manual de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) para pruebas lentas¹⁶. Se consideró animal positivo aquel que reaccionó de forma positiva a BPA y luego mostró títulos mayores de 100 en SAT y de 25 en 2ME, como también ≥ 85 en valores de FPA¹⁴.

Virus de VA. Se utilizó un kit de ELISA comercial para la detección de anticuerpos (IDEXX PRV/ADV gI Ab, IDEXX Laboratories, Inc., Westbrook, Maine, Estados Unidos). Para su interpretación se siguieron las recomendaciones del fabricante.

VI. Se empleó la técnica de inhibición de la hemaglutinación, de acuerdo con el protocolo estándar de la OIE²². Como antígenos se utilizaron los subtipos de VI aislados en cerdos en Argentina con mayor frecuencia: H1N1pdm09 (pH1) y H3N2 clúster II (H3). Se consideraron animales positivos aquellos con títulos mayores de 1/40²².

Para todos los agentes analizados se consideró establecimiento positivo aquel con al menos un animal positivo.

Análisis estadístico

Se utilizó el test exacto de Fisher para evaluar la asociación entre distintas variables explicativas (número de madres del establecimiento, con más o menos de 50 madres, región, sistema y finalidad de la producción) y el estatus de positivo a cualquiera de los agentes en estudio.

Resultados

Se visitaron 68 establecimientos, de los cuales 39 tenían menos de 50 madres en producción y 29 más de 50 madres; en todos ellos se tomaron muestras. Los estudios serológicos para VI se realizaron en 55 establecimientos. La localización de los establecimientos muestreados y su estatus para VI (H1N1 y H1N1-H3N2) y para brucelosis y VA en relación con la densidad de granjas se muestran en las figuras 1-3.

Tabla 2 Distribución de los establecimientos según la finalidad de la producción

Tipo de producción	n	%
Ciclo completo	51	75
Engordador	2	3
Cabaña	2	3
Venta de lechones	13	19
Total	68	100

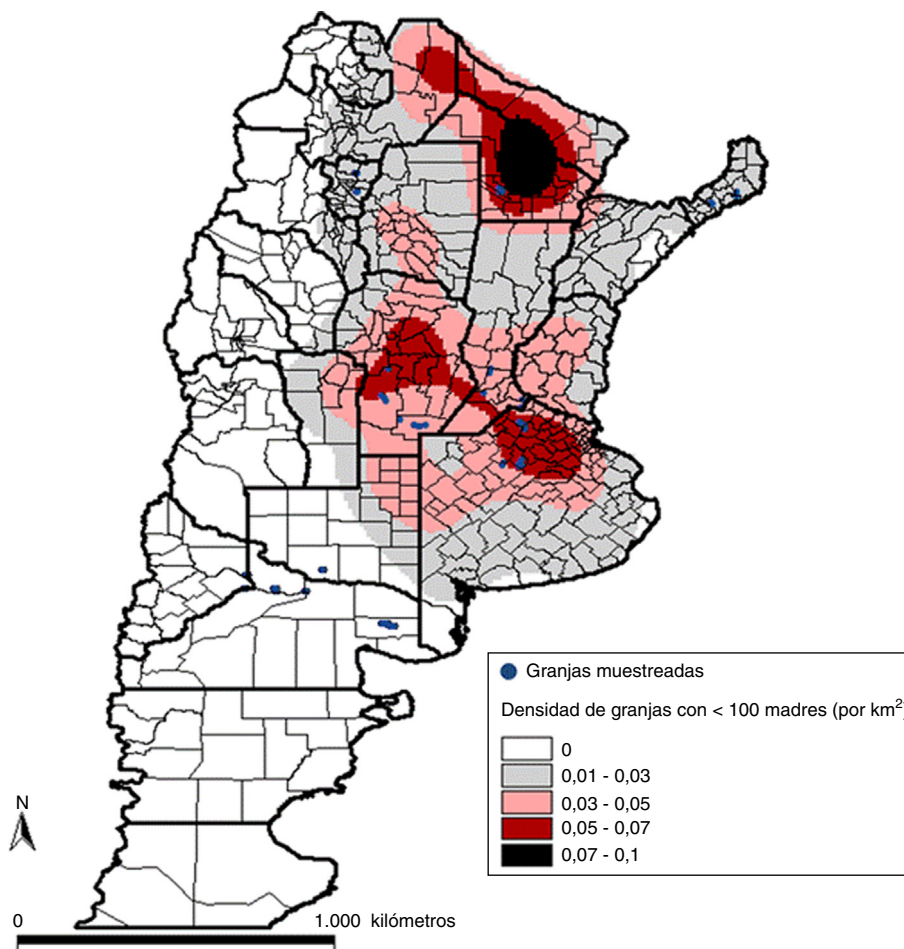


Figura 1 Localización de las granjas muestreadas superpuestas sobre la densidad de granjas con menos de 100 madres por km². Nota: como muchas de las granjas estudiadas se encontraban a menos de 500 m de distancia, estos puntos cercanos no logran diferenciarse en el mapa.

En las [tablas 1 y 2](#) se presentan los resultados de la encuesta en relación con el sistema productivo y la finalidad de la producción. La [tabla 3](#) muestra los resultados de los estudios serológicos para cada uno de los agentes investigados en relación con la cantidad de madres de las granjas y la región.

Solo el 21% (n = 14) de los productores tenía conocimiento sobre los planes nacionales de control y erradicación para VA y Bs, y el 8,8% (n = 6, incluyendo las 2 cabañas visitadas) realizaba los estudios serológicos semestrales para la detección de anticuerpos contra estos agentes. Ningún productor

reportó signos clínicos o problemas productivos asociados a Bs y VA. Los factores de riesgo para la transmisión de Bs y VI del cerdo al humano eran desconocidos por la totalidad de los productores.

El 47% (n = 32) de los criaderos compra sus reproductores a pares o en ferias y no considera el estatus sanitario como un factor para tener en cuenta al momento de su compra.

En relación con la aplicación de normas de bioseguridad, la mediana de distancia entre granjas fue de 500 m, pero solo el 16% (n = 11) de los establecimientos tenían cerco perimetral y este no evitaba el paso de cerdos. Si bien el

Tabla 3 Resultados de los estudios serológicos

Zona	Categoría	<i>Brucella suis</i>	Virus de la enfermedad de Aujeszky	H1pdm09	H3
Norte	< 50 madres	2/15	1/15	4/10	1/10
	> 50 madres	0/3	1/3	0/0	0/0
Centro	< 50 madres	1/12	2/12	9/10	4/10
	> 50 madres	1/22	3/22	18/19	1/19
Sur	< 50 madres	0/12	0/12	9/12	0/12
	> 50 madres	0/4	1/4	4/4	0/4
Total		4/68	8/68	44/55	6/55

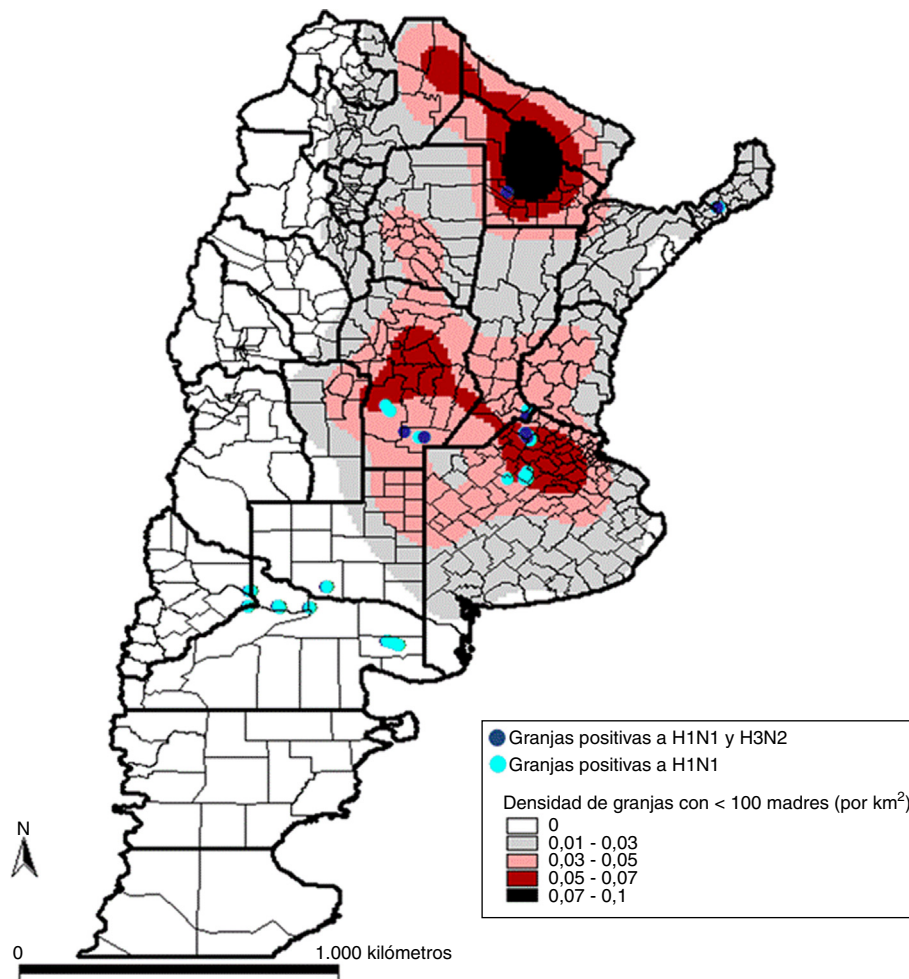


Figura 2 Granjas positivas a influenza H1N1 y a H1N1- H3N2, superpuestas sobre la densidad de granjas con menos de 100 madres por km².

47% de los establecimientos ($n = 32$) reportaron la realización de cuarentena ante la compra e ingreso de reproductores, aquella se realizaba en el mismo espacio donde se encontraban los reproductores del criadero y ninguno realizaba estudios serológicos para determinar el estatus sanitario durante la cuarentena. Solo el 37% ($n = 25$) de las granjas contaba con asesoramiento veterinario, en su mayoría brindado por organismos públicos.

Las 4 granjas positivas a Bs eran establecimientos al aire libre. Seis granjas fueron positivas a más de un agente (3 a VA e VI; 2 a VI y Bs, y 1 a VA y Bs). Se detectó asociación de significación estadística entre las granjas con más de 50 madres y el estatus de positivo a VI. Las granjas con más de 50 madres tienen 10 veces más chances (IC del 95%: 1,2-83) de ser positivas a pH1. No se observaron diferencias de significación estadística entre el estatus serológico y el sistema de producción ni la finalidad de la producción para ninguna de las enfermedades consideradas.

Discusión

El objetivo de este estudio fue conocer la situación sanitaria y caracterizar, al menos parcialmente, a los criaderos

pequeños y familiares de 3 regiones de la Argentina. Esto constituye un paso necesario y fundamental para desarrollar estrategias apropiadas y sustentables tendientes a mejorar la eficiencia productiva y la situación sanitaria^{6,11,12} en este estrato de productores porcinos.

La capacitación de los productores en lo referente a la bioseguridad, el manejo, la nutrición y la disposición de cadáveres y efluentes es una herramienta esencial al momento de la mejora en la calidad productiva^{6,11}. También habría que brindar conocimiento a los productores sobre aspectos generales de las enfermedades porcinas con riesgo zoonótico y alto impacto productivo^{11,13}.

Para optimizar la capacitación de los productores debe propiciarse su encuentro con técnicos entrenados en el manejo sanitario de la especie porcina. En nuestro estudio detectamos limitada asistencia veterinaria, tal como se describe en los países con altos índices de producción familiar. Estudios previos realizados en otros países demostraron mejoras en estos sistemas productivos al invertir recursos económicos y humanos en asistencia veterinaria^{8,11}.

Desde el punto de vista sanitario, se comprobó la circulación de Bs, VA y VI en la población estudiada. El porcentaje de establecimientos positivos a VA (11%) fue similar a lo reportado por SENASA (19%)⁵, si bien por las

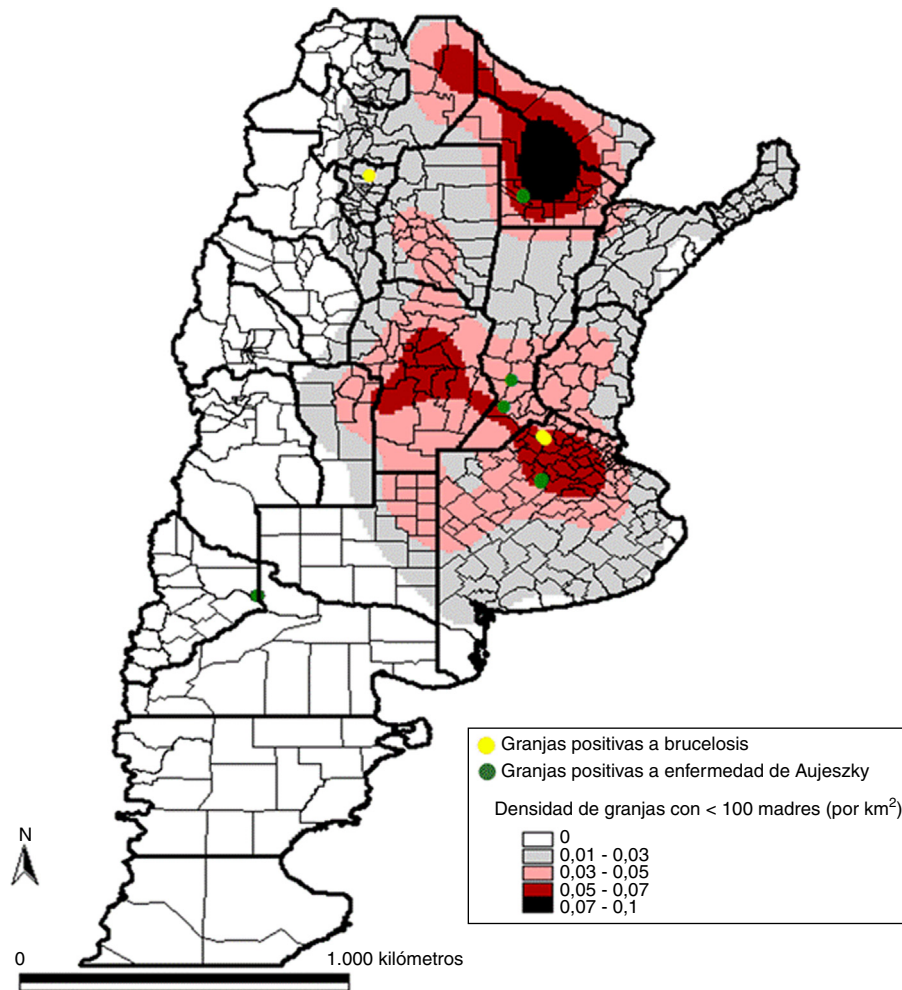


Figura 3 Granjas positivas a brucelosis y enfermedad de Aujeszky, superpuestas sobre la densidad de granjas con menos de 100 madres por km².

características del relevamiento, no aleatorio ni representativo, no se pueden extrapolar las prevalencias obtenidas a nivel país.

En Argentina no existen datos sobre la prevalencia de Bs en granjas que no comercializan material genético. El porcentaje de establecimientos positivos a Bs en este estudio fue bajo y las 2 cabañas evaluadas fueron negativas. De todas maneras, el hecho de que este agente circule en los sistemas de producción familiar constituye un riesgo.

La principal fuente de contagio de Bs son el semen y los fluidos productos de partos y abortos. Si bien no se evaluaron hembras gestantes, en los criaderos evaluados, las hembras gestantes, las vacías y los padrillos comparten el mismo ambiente, sin ningún tipo de separación física, lo que incrementa el riesgo de diseminación de este agente y de infección. Teniendo en cuenta las principales fuentes de contagio y considerando su riesgo zoonótico, las personas que participan en actividades relacionadas con la monta o el manejo de reproductoras y no conocen las medidas de prevención adecuadas tienen mayor riesgo de infectarse¹⁶. Los resultados de la encuesta llevada a cabo indicaron que el nivel de desconocimiento sobre esta zoonosis es muy alto, lo cual alerta sobre la necesidad de capacitar a los

productores sobre esta enfermedad y de realizar programas de eliminación de animales positivos.

Se consideran factores de riesgo para la diseminación de VA y Bs la ausencia de medidas de bioseguridad básicas, como disponer de alambrado periférico; la ausencia de cuarentena o que aquella se realice dentro del establecimiento receptor y en contacto directo de los animales ingresados con los animales del establecimiento; el intercambio de animales sin controles sanitarios y el contacto con cerdos silvestres^{10,12}. Los 2 establecimientos registrados como cabaña fueron negativos para Bs y VA y, si bien los datos de la encuesta reportaron presencia de alambrado perimetral en ambos, este solo limitaba parcialmente el contacto con animales silvestres. Además, la cuarentena para el ingreso de reproductores se encontraba dentro del mismo predio de producción. Ambas fallas representan un factor de riesgo para el ingreso de estas enfermedades. Finalmente, estos 2 establecimientos comercializadores de animales reproductores no contaban con un asesoramiento veterinario periódico, lo cual puede considerarse otro factor de riesgo para la difusión de enfermedades.

Los sistemas de producción familiar de baja tecnificación proveen la oportunidad de contacto estrecho entre

el humano y varias especies de animales, y entre ellas, a su vez (bovinos, aves de corral, porcinos, caninos, felinos). Esto hace que el ambiente sea especialmente propenso para la circulación de un gran número de agentes zoonóticos o que afectan a más de una especie^{7,16,23,24}. En este contexto, el VI cobra mayor importancia y estudios realizados en otros países demostraron la circulación en pequeños productores^{7,21,23,24}, además de demostrar la circulación de VI relacionados con el pH1 desde el año 2000. Todo esto resalta la importancia de la vigilancia del VI en este estrato de población porcina y humana²¹.

La alta tasa de establecimientos positivos al subtipo pH1 indica que en este estrato productivo el citado subtipo se diseminó ampliamente, a diferencia de lo planteado en estudios realizados en Perú, México y Chile^{7,21}. Si bien no se evaluaron las posibles fuentes de ingreso del VI, la presencia de mayor cantidad de animales y criaderos positivos a pH1 podría asociarse a la infección a partir del humano²³, ya que este subtipo circula ampliamente en la población humana nacional²⁰, o a la infección a partir de hembras de reposición¹. Estas 2 vías son consideradas la principal fuente de ingreso del VI en una granja porcina¹. Esta última opción sería de más importancia en el estrato productivo de más de 50 madres, dado que estos productores son los que adquieren reproductores de establecimientos con mayor tecnificación y cantidad de animales. Otros factores que podrían explicar la mayor proporción de seropositividad en los establecimientos de más de 50 madres serían el confinamiento, la mayor densidad animal y el hecho de ser establecimientos de ciclo completo, donde al tener como objetivo la producción de capones de más de 100 kg, los cerdos permanecen más tiempo en la granja³.

Por otro lado, la presencia de animales positivos a H3, aún en muy bajo porcentaje, indica la circulación de este subtipo en la población porcina estudiada. Cabe destacar que los virus H3 circulantes actualmente en la población porcina nacional se relacionan con VI de origen completamente humano, que lograron infectar, transmitirse y persistir en la población de cerdos. Estos virus están relacionados con VI estacionales que circularon en la población humana en el período 2000-2002.

El contacto estrecho entre cerdos y humanos, dadas las características de manejo que existen en este estrato productivo, representa un riesgo zoonótico, ya que habría una franja etaria (niños menores de 13 años) expuesta a la infección por VI H3, para los cuales carecen de inmunidad²⁰. Una cuestión que queda por determinar es si en estos casos la infección persiste en la granja, tal como se observa en granjas intensivas con mayor número de animales, o si se producen introducciones continuas de virus.

Si bien este trabajo abarcó un limitado número de productores, sus resultados remarcan la necesidad de realizar estudios más integrales y representativos a nivel país para evaluar los agentes circulantes y su prevalencia, con el objetivo de implementar medidas de prevención y control.

En este estudio, se demostró la circulación de Bs, VA y VI en un estrato productivo de mucha importancia y escasamente estudiado en Argentina. La caracterización productiva y sanitaria evidencia el desconocimiento por parte de un alto porcentaje de productores en relación con la transmisión de enfermedades, el riesgo de ingreso de aquellas a los establecimientos y los factores de riesgo para la

transmisión hacia el humano, así como los planes nacionales de erradicación y control. Finalmente, cabe destacar que la caracterización productiva y el relevamiento de enfermedades son de suma importancia para mejorar la productividad y reducir el riesgo de transmisión de enfermedades entre animales y hacia el humano.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Financiamiento

Este estudio se realizó con financiamiento de INTA mediante PE PNSA 1115057 y NIAID, Center for Research on Influenza Pathogenesis (CRIP) mediante convenio University of Georgia e Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria en el contrato NIAID No. HHSN272201400008 C.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no poseer ningún conflicto de intereses en relación con el artículo publicado.

Bibliografía

1. Allerson M, Davies P, Gramer M, Torremorell M. Infection dynamics of pandemic 2009 H1N1 influenza virus in a two-site swine herd. *Transbound Emerg Dis.* 2014;6:490–9.
2. Cappuccio JA, Pena L, Dibarbora M, Rimondi A, Piñeyro P, Insaralde L, Quiroga MA, Machuca M, Craig MI, Olivera V, Chockalingam A, Perfumo CJ, Perez DR, Pereda A. Outbreak of swine influenza in Argentina reveals a non-contemporary human H3N2 virus highly transmissible among pigs. *J Gen Virol.* 2011;92:2871–8.
3. Couacy-Hymann E, Kouakou V, Aplogan G, Awoume F, Kouakou C, Kakpo L, Sharp B, McClenaghan L, McKenzie P, Webster R, Webby R, Ducatez M. Surveillance for influenza viruses in poultry and swine, West Africa, 2006–2008. *Emerg Infect Dis.* 2012;18:1446–52.
4. Dibarbora M, Cappuccio J, Olivera V, Quiroga M, Machuca M, Perfumo C, Pérez D, Pereda A. Swine influenza: Clinical, serological, pathological, and virological cross-sectional studies in nine farms in Argentina. *Influenza Other Respir Viruses.* 2013;4:10–5.
5. Enfermedad de Aujeszky [Internet]. Buenos Aires: SENASA; 2009 [actualizado 2 Oct 2013; consultado 23 Mar 2016]. Disponible en: <https://viejaweb.senasa.gov.ar/contenido.php?to=n&in=862&io=22443>.
6. Good practices for biosecurity in the Pig Sector [Internet]. Roma: FAO; 2010 [consultado 23 Marzo 2016]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i1435e.pdf>.
7. Hamilton-West C, Bravo-Vasquez N, di Pillo F, Alegría Morán R, Lazo A, Cartes D, Salas R, Galdames P. Influenza virus

- surveillance in backyard poultry and swine in central Chile. 3rd International Symposium on Neglected Influenza Viruses, 2015, p. 21. Athens, Georgia, USA.
8. Huttner K, Leidl K, Pfeiffer DU, Kasambara D, Jere FBD. The effect of a community-based animal health service programme on livestock mortality, off-take and selected husbandry applications: A field study in northern Malawi. *Livest Prod Sci.* 2001;72:263–78.
 9. Informe estadístico de producción porcina. Año 2014 [Internet]. Buenos Aires: SENASA; 2015 [consultado 23 Mar 2016]. Disponible en: http://www.senasa.gov.ar/prensa/DNSA/publicaciones/informes_estadisticos/mov_porcino2014/Movporcino2014.pdf.
 10. Jeoung HY, Lim SI, Kim JJ, Cho YY, Kim YK, Song JY, Hyun BH, An DJ. Serological prevalence of viral agents that induce reproductive failure in South Korean wild boar. *BMC Veterinary Research.* 2015;11:78.
 11. Leslie E, Geong M, Abdurrahman M, Warda M, Toribio J. A description of smallholder pig production systems in eastern Indonesia. *Prev Vet Med.* 2015;118:319–32.
 12. Martínez-López B, Alexandrov T, Mur L, Sánchez-Vizcaíno F, Sánchez-Vizcaíno JM. Evaluation of the spatial patterns and risk factors, including backyard pigs, for classical swine fever occurrence in Bulgaria using a Bayesian model. *Geospatial Health.* 2014;8:489–501.
 13. Nampanya S, Suon S, Rast L, Windsor PA. Improvement in smallholder farmer knowledge of cattle production, health and biosecurity in southern Cambodia between 2008 and 2010. *Transbound Emerg Dis.* 2012;59:117–27.
 14. Nielsen K, Gall D, Smith P, Vigliocco A, Perez B, Samartino L, Nicoletti P, Dajer A, Elzer P, Enright F. Validation of the fluorescence polarization assay as a serological test for the presumptive diagnosis of porcine brucellosis. *Vet Microbiol.* 1999;68:245–53.
 15. Pereda A, Rimondi A, Cappuccio J, Sanguinetti R, Angel M, Ye J, Sutton T, Dibárbora M, Olivera V, Craig MI, Quiroga M, Machuca M, Ferrero A, Perfumo C, Perez D. Evidence of reassortment of pandemic H1N1 influenza virus in swine in Argentina: Are we facing the expansion of potential epicenters of influenza emergence? *Influenza Other Respir Viruses.* 2011;5:409–12.
 16. Porcine brucellosis [Internet]. París: OIE; 2009 [actualizado 05/2009; consultado 23 Mar 2016]. Disponible en: http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/2.08.05_PORCINE_BRUC.pdf.
 17. Ramírez-Mendoza H, Martínez C, Mercado C, Castillo-Juárez H, Hernández J, Segalés J. Porcine circovirus type 2 antibody detection in backyard pigs from Mexico City. *Res Vet Sci.* 2007;83:130–2.
 18. Resolución 474/2009 [Internet]. Buenos Aires: InfoLEG; 2009 [actualizado 31/07/2009; consultado 23 Mar 2016]. Disponible en: <http://www.infoleg.gov.ar/infolegInternet/anexos/155000-159999/156371/norma.htm> Res 474/2009.
 19. Resolución 63/2013 [Internet]. Buenos Aires: SENASA; 2015 [actualizado 28/02/2013; consultado 23 Mar 2016]. Disponible en: <http://www.senasa.gov.ar/normativas/resolucion-632013>.
 20. Russo ML, Pontoriero AV, Benedetti E, Czech A, Avaro M, Periolo N, Campos AM, Savy VL, Baumeister EG. Antigenic and genomic characterization of human influenza A and B viruses circulating in Argentina after the introduction of influenza A(H1N1)pdm09. *J Med Microbiol.* 2014;63:1626–37.
 21. Saavedra-Montañez M, Carrera-Aguirre V, Castillo-Juárez H, Rivera-Benitez F, Rosas-Estrada K, Pulido-Camarillo E, Mercado-García C, Carreón-Nápoles R, Haro-Tirado M, Rosete D, Cabello C, Manjarrez M, Sánchez-Betancourt I, Ramírez-Mendoza H. Retrospective serological survey of influenza viruses in backyard pigs from Mexico City. *Influenza Other Respir Viruses.* 2013;7:827–32.
 22. Swine influenza [Internet]. París: OIE; 2009 [actualizado 05/2010; consultado 23 Mar 2016]. Disponible en: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.08.08_SWINE_INFLUENZA.pdf.
 23. Tinoco Y, Montgomery J, Kasper M, Nelson M, Razuri H, Guezala M, Azziz-Baumgartner E, Widdowson MA, Barnes J, Gilman R, Bausch D, Gonzalez A. Transmission dynamics of pandemic influenza A(H1N1)pdm09 virus in humans and swine in backyard farms in Tumbes, Peru. *Influenza Other Respir Viruses.* 2016;10:47–56.
 24. Weller C, Cadmus K, Ehrhart E, Powers B, Pablonia K. Detection and isolation of influenza A virus subtype H1N1 from a small backyard swine herd in Colorado. *J Vet Diagn Invest.* 2013;25:782–4.