



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

**ESTUDIO DE PARVOVIRUS PORCINO EN
GRANJAS DEL ESTADO DE MEXICO**

T E S I S

Que para obtener el título de:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P r e s e n t a :

Martha Elena Rodríguez Villela

Director de Tesis: M.V.Z., M. en C. ABEL CIPRIAN CARRASCO



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

INDICE

Capítulo	página
1. INTRODUCCION.....	1
1.1. Problemas en la falla de la reproducción.....	1
1.1.1. Etiología no infecciosa.....	1
1.1.2. Etiología infecciosa bacteriana.....	3
1.1.3. Etiología infecciosa parasitaria.....	7
1.1.4. Etiología infecciosa viral.....	9
1.2. PARVOVIRUS PORCINO.....	14
1.2.1. Agente etiológico.....	14
1. Historia.....	14
2. Nomenclatura.....	14
3. Propiedades del virus.....	14
3.1. Propiedades fisicoquímicas.....	14
3.2. Propiedades hemoaglutinantes.....	17
3.3. Propiedades antigénicas.....	17
3.4. Resistencia del virus a temperatura y pH.....	17
3.5. Resistencia a agentes químicos.....	18
4. Aislamiento viral.....	19
1.2.2. Transmisión.....	19
1.2.3. Patogenia.....	20
1.2.4. Cuadro clínico.....	24
1.2.5. Lesiones.....	24
1. Lesiones macroscópicas maternas.....	25
2. Histopatología materna.....	25
3. Lesiones macroscópicas fetales.....	25
4. Histopatología fetal.....	25
1.2.6. Diagnóstico clínico.....	27
1. Detección del antígeno viral en momias... 27	
2. Detección de anticuerpos contra Parvovi- rus Porcino en fetos.....	29
3. Aislamiento e identificación viral a partir de fetos momificados.....	31

.4. Detección de anticuerpos contra Parvovirus Porcino en cerdas.....	34
1.2.7. Control.....	36
1.2.8. Profilaxis.....	37
1.2.9. Epizootiología.....	41
2. OBJETIVOS.....	43
3. MATERIAL Y METODOS.....	44
3.1. Identificación del Parvovirus Porcino a partir de fetos momificados.....	44
3.2. Estudio serológico de cerdas en granjas.....	47
4. RESULTADOS.....	51
5. DISCUSION.....	57
6. CONCLUSIONES.....	63
7. BIBLIOGRAFIA.....	64

1. INTRODUCCION

Los problemas por falla en la reproducción de las explotaciones porcinas del país, ocupan un lugar preponderante, ya que esto conlleva un detrimento en la producción y economía dentro de la industria porcina, debido a tales fallas las pérdidas alcanzan altos niveles. Sin embargo la solución a éstos problemas no es fácil, ya que se encuentran involucrados una serie de factores que en un momento determinado son difíciles de diferenciar debido a que puede haber cierto enmascaramiento entre ellos.

Debemos de tomar en cuenta que las alteraciones reproductivas pueden o no ser infecciosas y que la solución depende en gran parte de que tan rápido se llegue a un buen diagnóstico.

1.1. PROBLEMAS EN LA FALLA DE LA REPRODUCCION

La etiología de la falla reproductiva se puede dividir en;

- 1.1.1. No infecciosa.
- 1.1.2. Infecciosa bacteriana.
- 1.1.3. Infecciosa parasitaria.
- 1.1.4. Infecciosa viral.

1.1.1. Etiología no infecciosa.

1. Problemas genéticos.

Anormalidades fetales: fetos muy grandes, camadas con gran número de lechones. Pelvis estrecha de la madre. Esterilidad que puede ser también de tipo infeccioso, anatómico o fisiológico. (Bearden, H.J. y Fuquay, J. -- 1982).

2. Causas Fisiológicas.

Ovarios quísticos: poco frecuente en cerdas, pueden causar fracaso ovulatorio, en ocasiones la recuperación es espontánea.

Ciclos estrales irregulares: Están estrechamente relacionados con calores silenciosos debidos en general a situaciones de stress y a fallas hormonales. (Beraden, H.J. y Fuquay, J. 1982).

Edad: se sabe que cerdas muy jóvenes o muy viejas no son buenas reproductoras y que al utilizarlas para reproducción a edades tempranas, su vida reproductiva será menor. Las pérdidas de embriones es mayor en cerdas viejas. (Hafez, E.S.E. 1978).

Parto fisiológico prolongado: en el cual la vida del lechón está en peligro. (Hafez, E.S.E. 1978).

3. Problemas debidos al medio ambiente.

La tecnificación dentro de las granjas porcinas ha evolucionado y por lo tanto se han modificado las relaciones del cerdo con su medio ambiente, al ser explotaciones intensivas, el cerdo es más dependiente del medio en el que se desarrolla y cualquier modificación que se realice en éste tendrá repercusiones inmediatas en el animal, por lo tanto se deben de tener en cuenta factores como temperatura, humedad, vientos, clima, etc., para evitar fracasos en la reproducción. Se ha visto que el aborto está intimamente ligado a ondas frías en climas calurosos. Las temperaturas extremadamente altas provocan disminución en la fertilidad y problemas ovulatorios. Con respecto a la estación del año: existen ligeras variaciones en la fertilidad, en verano el índice de partos es menor (52%) en comparación a otros meses (62%) y el tamaño de la camada se ve disminuido. Con respecto al macho el volumen de eyaculado es menor pero de mayor concentración en épocas frías. A su vez todas éstos factores provocan situaciones de stress. (Beraden, H.J. y Fuquay, J. 1982).

4. Problemas de manejo.

Lesiones y traumatismos. Stress: se ha visto que cerdas - en situaciones de tensión, tienen un índice de concepción más bajo, debido a la liberación de adrenalina que inhibe las contracciones del útero y oviducto, que participan en el transporte de espermias en el sitio de fertilización. (Bearden, H.S. y Fuquay, J. 1982). Malas condiciones higiénicas y errores técnicos que a su vez favorecen problemas infecciosos. (Vannier, 1978).

.5. Causas alimenticias.

Deficiencias nutricionales: Vitamina A y E provocan anestro, irregularidad de estros y retraso en el desarrollo. Vitamina B 12 ocasiona reducción de la ovulación. Calcio, iodo y fierro se han visto relacionados en el desarrollo del feto. Manganeso, su disminución favorece las disfunciones ováricas. Proteínas de origen animal y alimentos calóricos producen hipoplasia en órganos reproductivos y retraso en la pubertad, además de anestro, estros irregulares, bajo índice de ovulación y concepción y aumento de muertes prenatales. (Flores Menéndez 1981). Toxemias: Alimentos estrogénicos y dicumarina se han visto involucrados en abortos, transporte anormal de ovulos y espermias y fallas en la implantación. (Hafez, E.S.E. 1978).

.6. Problemas psicológicos.

Situaciones de stress. Los signos del estro se demuestran con mayor claridad cuando los verracos se encuentran a poca distancia donde las cerdas los puedan ver, escuchar y oler. Las cerdas en confinamiento tienen estros inhibidos y cuando se les lleva al área de pastura entran rápidamente en estro. Frigidez accidental: por situaciones de miedo ante el macho o por problemas de manejo y alimentación. (Bearden, H.J. y Fuquay, J. 1982).

1.1.2. Etiología infecciosa Bacteriana.

Dentro de los problemas de falla en la reproducción son -

muchos los agentes infecciosos bacterianos que se encuentran involucrados.

En 1975 Wrathall clasifica a los agentes infecciosos susceptibles de producir trastornos de la gestación de la cerda de la siguiente manera:

Grupo I: Microorganismos de poder patógeno facultativo. (Cuadro 1). El poder patógeno está ligado a la aparición en la explotación de causas favorables como son: deficiencia higiénica, subalimentación, malas condiciones de alojamiento, etc. Estas infecciones en útero provocan: endometritis que dificulta la fijación de los blastocistos y provocan mortalidad embrionaria. En algunos casos la endometritis se acompaña de sustancias luteolíticas (tal vez prostaglandinas) y de ésta manera se pone fin a la gestación. El aborto es la regla en las infecciones más tardías. Las infecciones por vía hematógena son la consecuencia de una toxemia o una septicemia. Las bacterias o toxinas necrosantes producen microlesiones que permiten la proliferación de microorganismos en el endometrio. Estos gérmenes lesionan la placenta y la infección se extiende entre los embriones o fetos por vasos umbilicales o líquidos amniótico y alantoideo. El diagnóstico y diferenciación de éstas infecciones es muy difícil de establecer ya que son habitantes normales de la explotación y sólo se logrará mediante el aislamiento de dichas bacterias, para eliminar tales infecciones se deben atacar las causas predisponentes, modificando el agua de bebida contaminada y en general la higiene de la granja. (Vannier, 1978; Marastoni, 1980).

Grupo II: Agentes con poder patógeno sólo sobre el embrión o feto, los adultos afectados no presentan ningún síntoma desarrollando una respuesta inmunitaria efectiva a la infección, esencialmente son virus. (Ver etiología infecciosa viral).

Grupo III: Son microorganismos responsables de enfermedades definidas, los trastornos de la reproducción sólo constituyen uno de los aspectos clínicos de la enfermedad,

Cuadro 1. Bacterias de poder patógeno facultativo que alteran la reproducción en la cerda.

Microorganismo	Manifestación	Carencia Alimenticia.
<u>Aerobacter</u>	aborto	
<u>Corinebacterium pyogenes</u>	metritis, esterilidad, muerte prenatal y aborto	Iodo.
<u>Escherichia coli.</u>	aborto y mortinatalidad.	Vitamina B.
<u>Erysipelothrix rhusiopathiae</u>	Muerte pre o post-natal y aborto.	
<u>Listeria monocytogenes</u>	aborto y muerte post-natal.	
<u>Micobacterium tuberculosis</u>	Muerte prenatal y mortinatalidad.	Colina.
<u>Micoplasma spp.</u>	aborto	Manganeso.
<u>Pasteurella multocida</u>	aborto	Rivoflavina.
<u>Salmonella cholerae suis</u>	aborto	Hierro.
<u>Staphilococcus aureus</u>	endometritis, esterilidad, mortalidad perinatal y aborto.	Vitamina K.
<u>Streptococcus spp.</u>	esterilidad, mortalidad prenatal y aborto.	Vitamina B ₁₂
<u>Vibrio spp.</u>	aborto.	

Modificado: (Wrathall 1975; Dunne y Leman 1975).

además producen pérdidas considerables en la explotación, dentro de éste grupo encontramos: Erisipela, Brucelosis, Leptospirosis, Cólera porcino, enfermedad de Aujeszky, Gastro enteritis transmisible, y Toxoplasmosis, entre otras. (Vannier 1978).

Erisipela o mal rojo. El agente etiológico es: Erysipelothrix insidiosa. Además de todo el cuadro clínico característico de la enfermedad se encuentran cada vez con mayor frecuencia abortos, sin embargo éste problema desaparece cuando hay una adecuada vacunación con revacunación cada seis meses. Los abortos no siempre se acompañan de los síntomas típicos de la enfermedad, por lo cual el diagnóstico es difícil. (Vannier 1978).

Brucelosis. El agente etiológico es Brucella suis, habiendo se aislado también Brucella abortus y Brucella melitensis. Se transmite por vía oral, respiratoria, conjuntiva y venérea. (Gualandi y Marastoni 1980). La bacteria se localiza en ganglios linfáticos, bazo, tejido mamario, huesos, etc., y sobre todo en útero en las hembras y en el testículo en el macho. (Flores Meneñdez 1981). El cuadro clínico reproductivo es: aborto, si llega la gestación a término se encuentran fetos momificados, mortinatos, lechones débiles o fetos en perfecto estado de salud, según sea el momento en el que se presente la infección. El aborto es bastante rápido y sin problemas a excepción de mucosidades abundantes ricas en brucellas, se presenta entre las 4 y 12 semanas de gestación y se da después de un periodo de latencia de 1 a 3 días. Dependiendo del grado en que la bacteria haya afectado a la cerda o al macho, pueden quedar estériles. A la necropsia de los fetos se encuentran en general como característica: todo el feto cubierto por exudado amarillento purulento al igual que las mucosas y vejiga. El diagnóstico se hace por aislamiento, hemoaglutinación, inhibición de la hemoaglutinación, prueba de rivanol o por fijación de complemento. En las cerdas no gestantes se presenta metritis difusa. (Flores y Ciprián 1980).

Leptospirosis: La incidencia de ésta enfermedad en México ha aumentado notablemente durante los últimos años. El agente etiológico es Leptospira del cual 5 serotipos afectan al cerdo: Leptospira pomona (la mas común), Leptospira grippotyphosa, Leptospira canicola, Leptospira icterohaemorrhagiae y Leptospira hyos. Es un saprófito que se encuentra comunmente en rios, lagos y aguas negras e de mar. Es uno de los principales problemas de salud pública, ya que es zoonótica. Su transmisión es por orina, siendo rara por vía oral, las membranas fetales y fetos muertos son importantes focos de infección. (Vannier 1978).

La infección por Leptospira puede pasar desapercibida e incluso curarse espontaneamente. Durante la bacteremia el microorganismo es capaz de atravesar la placenta epitelio corial; debido a la formación de anticuerpos la bacteremia cesa, a pesar de éste fenómeno la leptospira afecta al feto, ya que los anticuerpos no pueden atravesar la placenta y el feto no puede producir sus propias defensas. La sintomatología reproductiva mas importante es el aborto, que generalmente se dá en el segundo mes de la gestación, sin embargo pueden existir fetos momificados (raramente), mortinatos, o nacer lechones débiles dependiendo del momento de la infección y de los serotipos causales. (Cuadro 2). El diagnóstico de la enfermedad se hace identificando las leptospiras en sangre, por fijación de complemento o por aglutinación en suero, siendo el diagnóstico bastante difícil de llevar a cabo, además es recomendable hacer varias pruebas al mismo tiempo para confirmarlo. (Flores Menéndez -- 1981).

1.1.3. Etiología Infecciosa Parasitaria. (Cuadro 3).

Los agentes parasitarios tienen menor importancia en los problemas reproductivos, sin embargo es necesario tomarlos en cuenta para elaborar un diagnóstico diferencial y así establecer la causa de la falla reproductiva. Dentro de los parásitos que afectan a la reproducción el mas importante es toxoplasma.

Toxoplasmosis: El agente etiológico es Toxoplasma gondii.

Cuadro 2. Efectos de Leptospira pomona sobre la gestación.

Si la bacteremia sobreviene en el:	Consecuencias sobre la camada.	Consecuencias sobre la gestación.
1º mes	Infección rara	Ninguna, salvo si se infectan los embriones: retorno al calor.
2º mes	Pocos fetos infectados, momificados.	Ninguna, raramente abortos.
3º mes	Numerosos fetos infectados, muerte in situ.	Aborto 2 a 3 semanas antes de término.
4º mes	Mortinatalidad, momificación poco frecuente.	Ninguna.

(Vannier 1978).

Cuadro 3. Agentes parasitarios involucrados en la falla reproductiva.

Parásito	Error reproductivo
<u>Toxoplasma</u> spp.	parto prematuro.
<u>Strongiloides</u> spp.	parto retardado.
<u>Stephanuros</u> spp.	parto retardado.
<u>Ascaridia</u> spp.	parto retardado.

(Dunne y Leman 1975).

Su transmisión es por vía oral, a través de la ingestión de oocistos esporulados, provenientes de heces de gatos. El agente atraviesa el útero e infecta a los fetos. Los síntomas asociados a la reproducción son: abortos, parto prematuro o crías que llegan a término infectadas. El diagnóstico se hace por pruebas serológicas: fijación de complemento, Sabin Feldman o frotis. El control se basa en la interrupción del ciclo biológico del parásito. (Bearden y Fuquay 1982; Hafez 1978). En un estudio serológico realizado en México por Arias y cols. (1982) se encontró una baja incidencia y al parecer en la industria porcina nacional no es un problema.

1.1.4. Etiología infecciosa Viral: (Grupo II de Wrathall).

Dentro de éste grupo se clasifican los agentes por su tropismo particular hacia el embrión o feto, ya que para su desarrollo requieren células en constante crecimiento y multiplicación. Son virus desprovistos de poder patógeno para el adulto, su modo de acción varía en función de la edad de los embriones o fetos en el momento en que son infectados. (Vannier 1978).

Dentro de éste grupo se encuentran los virus que producen el síndrome SMEDI, el cual se caracteriza por: S - stillbirth-mortinatos; M- mummification- momificación; ED- embrionic death - muerte embrionaria; I - infertility- infertilidad.

Los virus reponsables de éste síndrome en orden de importancia son:

Parvovirus porcino. (Cartwright and Huck 1967).

Enterovirus. (Dunne y cols 1965; Pensaert and de Meurichy 1973).

Virus del Cólera porcino; (Young y cols. 1955; Huck and Aston 1964; Dunne and Clarke 1968).

Virus de la enfermedad de Aujeszky: (Gordon y Luke - 1955; Kluge y Maré 1974).

Virus B de la encefalitis japonesa: (Burns 1950).

Virus hemoaglutinante del Japón: (Sasahara y cols. - 1955).

Virus de la gastroenteritis transmisible del cerdo: (Doyle and Hutchins 1946).

Rinotraqueitis viral bovina. (Saxegaard and Onstad - 1946).

Enterovirus. Los enterovirus porcinos están ampliamente diseminados en la especie animal, tal vez sea el principal virus que provoque el síndrome SMEDI y en muchas ocasiones enmascara la acción de otros virus como sucede con Parvovirus porcino. El modelo epidemiológico que se sugiere es el siguiente: Prácticamente todas las cerdas poseen inmunidad activa y sus crías estarán protegidas por la inmunidad materna, hasta el período del destete, posterior a éste las crías se verán afectadas por diferentes serotipos de enterovirus uno tras otro, lo que significa que la mayor parte de los enterovirus están en circulación constante en las granjas de cría. La infección de lechones por todos los enterovirus incluyéndolos "enterovirus SMEDI", permanece subclínica, sin ningún problema de la enfermedad; por lo cual se deduce que durante el período de madurez sexual, la mayoría de la piara posee inmunidad activa ante los enterovirus y por lo tanto los problemas debido a falla en la reproducción no son muy comunes a pesar de que la infección está ampliamente diseminada. El problema SMEDI por los enterovirus se da cuando el virus ataca por primera vez a cerdas jóvenes primerizas y cuando éstas no han tenido contacto previo con la infección, lo que sucede al utilizar cerdas jóvenes que no se han mezclado con el resto de la población y que al entrar en contacto se infectarán, o en casos en los cuales la cerda esté gestante y se la transfiera a otra granja donde pudiera existir un serotipo del virus que no estaba presente en la granja de origen. El virus se elimina por heces y la vía de entrada es oral, no se transmite por vía venérea a diferencia de Parvovirus porcino. El virus pasa de la sangre al útero donde infecta al feto, no causa ninguna lesión a la placenta fetal ni a la placenta materna, lo cual sí ocurre con parvovirus porcino. Los anticuerpos maternos no

atraviesan la placenta y por lo tanto las manifestaciones clínicas que se dan son: reabsorción embrionaria, mortinatos, fetos momificados, camadas pequeñas y débiles, muertes post-natales, fetos con malformaciones, el aborto no se presenta nunca. (Vannier 1978).

Los enterovirus poseen 8 serotipos de los cuales los serotipos "SMEDI" son 4. (Cuadro 4).

Cuadro 4. Clasificación de los "Enterovirus SMEDI".

Grupo	Grupo SMEDI	Cepas
1	SMEDI- C (PS 34)	Teschen Talfan ECPO 3 ECPO 9 E 1 J 1 WR 1 T 1 F 65
2	SMEDI - B (PS 14)	F 34 PE 1 ECPO 6 O 25
3	SMEDI - E (PS 37)	ECPO 2 J 5 T 4 WR 4 F 7
8	SMEDI - A (PS 27) SMEDI - D (PS 32)	V 13 A 1 J 4 ECPO 5 O 11 WR 3 WR 5 T 2 WR 6 T 5 CHICO

(Gualandi y Marastoni 1980).

Diagnóstico de laboratorio: El virus no puede ser aislado de fetos momificados, lo cual si es posible con Parvovirus Porcino, sin embargo se puede aislar de mortinatos donde también existe la presencia de anticuerpos en sangre y exudados. No puede hacerse exámen serológico de la madre, ya que ésta puede presentar buenos niveles de anticuerpos por la amplia expansión del virus, éste podrá existir también en otras cerdas que no presentan ninguna falla en la reproducción. (Vannier 1978).

Se deben de revisar los niveles de anticuerpos en fetos nacidos vivos que no hayan tomado calostro, hermanos de los fetos momificados. Se recomienda que las cerdas primerizas estén en contacto continuo con la población porcina, durante el crecimiento y mezclar con el alimento heces de cerdos destetados. Las cerdas que han padecido la enfermedad quedan inmunes de por vida. (Vannier 1978).

Virus del Cólera Porcino: Las cepas de baja virulencia son las responsables de la falla reproductiva (Aynaud 1974) y su incidencia es muy débil. La evolución de la enfermedad se da sin síntomas clínicos aparentes, con formación de anticuerpos específicos y el poder patógeno lo ejerce solamente a nivel del feto o embrión. Las cepas responsables de la enfermedad aguda que es la que se conoce mas ampliamente son diferentes a las que afectan a la reproducción. La sintomatología que presenta es: abortos, mortinatos asociado a la presencia de fetos momificados. Cuando la enfermedad es crónica, los lechones que logran sobrevivir a la infección sufren retraso en el crecimiento y malformaciones congénitas, sin embargo los reportes hacen suponer que cuando llega a presentarse el aborto es debido mas bien a la enfermedad en general que a la acción del virus sobre el feto. La enfermedad suele persistir en forma insidiosa durante muchos meses. Los animales parece ser que tienen imposibilidad de defenderse mediante una respuesta inmune normal. por lo tanto es recomendable la vacunación de todos los reproductores. El diagnóstico se hace mediante aislamiento del virus a partir de fetos aborta

-dos y por inhibición de la hemoaglutinación en la madre y -
mortinatos. (Vannier 1978).

Virus de la Enfermedad de Aujeszky: El agente etiológico es de la familia Herpesvirus- Herpes suis I. Se transmite por secreciones orales, nasales, por leche, sémen, no se transmite por heces y orina. Los trastornos de la reproducción pueden preceder algunos días o semanas a la aparición de síntomas nerviosos en los lechones. La cerdas presentan un cuadro de anorexia, hipertermia, constipación, abortos en número considerable, mortinatos y fetos momificados, los fetos nacidos vivos presentan cuadros nerviosos tardíos, lo que complica el diagnóstico. El aborto se puede deber a la fiebre o en sí a la enfermedad, o bien el virus llega a afectar directamente al feto y ocurrirá el aborto, que es más frecuente que la momificación. La vacuna inactivada es un medio eficiente de control. (Vannier 1978).

Virus de la Gastroenteritis Transmisible del cerdo: En general los problemas reproductivos por ésta causa, pasan desapercibidos. Con la evolución de la enfermedad en las cerdas gestantes, sucede el aborto, que al igual que en el caso de cólera porcino, es poco frecuente y tal vez se deba más a la enfermedad en sí que a la acción del virus sobre el feto específicamente. En las granjas infectadas se dan los abortos casi al mismo tiempo que los síntomas característicos en los lechones, por lo cual es difícil encontrar el origen de los abortos. (Vannier 1978).

Los virus B de la encefalitis japonesa y el virus hemoaglutinante del Japón son exóticos en México. El virus de la rino traqueitis bovina no se sabe aún con exactitud que papel juega reproductivamente en las cerdas.

1.2 PARVOVIRUS PORCINO

1.2.1. Agente Etiológico.

1. Historia. (Cuadro 5).

El parvovirus porcino es el principal agente causal en la falla de la reproducción que manifiesta el síndrome SMEDI y se encuentra ampliamente diseminado por todo el mundo. (Mengeling 1975; Joo and Johnson 1976 d).

fué aislado por primera vez por Mayr y Mahnel (1966), como un virus contaminante de cólera porcino, sin embargo fué clasificado como un RNA picornavirus, posteriormente Cartwright y cols. (1969). demostraron que era un virus que contiene DNA como material genético.

2. Nomenclatura.

El nombre de parvovirus porcino procede del latín parvus que significa pequeño, fué propuesto por el Comité internacional de nomenclatura de los virus en 1970, para agrupar a los virus pequeños con DNA y establecer la familia Parvoviridae. (Anfrews 1970).

3. Propiedades del virus.

3.1. Propiedades fisicoquímicas.

Como su nombre lo indica el parvovirus porcino es un virus pequeño, al microscopio electrónico se ha visto que tiene un diámetro de 20 nm. (Mayr y cols. 1968; Morimoto y cols. 1972) o de 28 nm. según Cartwright y cols. (1969), en general se consideran diámetros de 18 a 28 nm. Todos los autores reportan que presenta una simetría cúbica e icosaédrica, sin envoltura con 32 capsómeros y carece de lípidos esenciales. (Mengeling 1975). Morimoto (1972) y Mayr y cols. (1966), refieren la presencia de partículas vacías en el virus. El virus posee dos poblacio

Cuadro 5. Historia del aislamiento del Parvovirus Porcino.

Año	Autores	País	Aislamiento a partir de
1966	Mayr y Mahnel	Alemania	Como contaminante de célula porcino.
1967	Horzineck y cols.	Alemania	Como contaminante de célula porcino.
1967	Cartwright y Huck	Gran Bretaña	96 aislamientos (fallas reproductivas).
1967	Huygelen y Peetermans.	Bélgica	Monoestratos de riñón porcino normal.
1968	Darbyshire y Roberts	Gran Bretaña	Diversos aislamientos (sistema respiratorio).
1968	Mayr y cols.	Alemania	Monoestratos de riñón fetal porcino, normales.
1969	Johnson	Gran Bretaña	Fetos abortados (intestino y encéfalo).
1970	Bachmann	Alemania	Monoestratos de riñón fetal porcino, normales.
1969 1970	Johnson y Collings	Gran Bretaña	Fetos normales, abortados y mortinatos.
1972	Morimoto y cols.	Japón	Mortinatos.
1972	Mengeling	E.U.A.	Cornetes de cerdos con rinitis.
1972	Coackley y Smith	Australia	Fetos normales y anormales.
1972	Rondhuis y Straver	Holanda	Fetos normales y abortados.
1973	Johnson	Australia	Lechones normales y anormales.
1973	Croghan y cols.	E.U.A.	Tripsina comercial.
1974	Redman y cols	E.U.A.	Camadas con cerdos vivos, momificados y mortinatos.
1975	Mengeling	E.U.A.	Cultivos de riñón.
1975	Pini	Sud-Africa	Fetos patológicos.

(continuación).

Año	Autores	País	Aislamiento a partir de
1977	Vannier y cols.	Francia	Cultivos primarios de riñón.
1977	Horner y Hunter	Nueva Zelanda	Fetos abortados.
1978	Ruckerbauer y cols.	Canadá	Cultivos de tiroides porcinas.
1979	Sørensen y Askaa	Dinamarca	Fetos abortados.
1979	Stepanek y cols.	Checoslovaquia	Mortinatos.
1982	Kudron y cols.	Hungría	Falla reproductiva.

(Joo y Johnson 1976; Ursache y Vallet 1984).

-nes: el grupo principal consta de cápsides "llenas" con una densidad boyante en CsCl de 1.38 gr/ml y otra población menor con cápsides "vacías" con densidad boyante de 1.29 gr/ml, con lo que se demuestran los picos de infectividad y de hemoaglutinación. (Morimoto y cols. 1972).

El peso molecular del virus es de 5.3×10^6 daitons; el ácido nucleico está compuesto por una cadena lineal de DNA, con peso molecular de 1.4×10^6 (Timbol 1980).

En base a su ácido nucleico y su capacidad para replicarse los parvovirus se dividen en tres grupos:

- Con capacidad de replicarse sin ayuda de otros virus
- Virus adenoasociados.
- Densovirus

El parvovirus porcino pertenece al primer grupo. Los virus maduros de este grupo se caracterizan por tener polaridad positiva en el DNA. Existe un sólo serotipo de parvovirus porcino. (Hallauer y cols. 1972; Mengeling 1972, 1975).

.3.2. Propiedades hemoaglutinantes.

La hemoaglutinina del parvovirus porcino es una característica de la partícula intacta y parece ser que reside en la cubierta proteica del virus (Johnson 1971). La estrecha asociación entre el anticuerpo de la hemoaglutinina y el anticuerpo del suero neutralizante, sugiere que ambos tienen el mismo origen (Johnson --- 1971; Johnson y Collings 1971; Joo y cols 1975). El parvovirus porcino es capaz de aglutinar eritrocitos de cuye, humano tipo O positivo, rata, ratón, mono y pollo; otras especies como borregos, cerdo, gato, pato o caballo muestran variaciones individuales considerables (Joo 1976). La actividad hemoaglutinante del virus es altamente dependiente de la temperatura en el momento en el que se realizan las pruebas, los mejores títulos se obtienen a 4°C (Huygelen y Peetermans 1967; Mengeling 1972), la capacidad hemoaglutinante es pobre o nula a 37°C (Mengeling 1972).

.3.3. Propiedades Antigénicas.

Diversos estudios muestran que todas las cepas aisladas en el mundo, poseen propiedades antigénicas similares, por lo cual se confirma la existencia de un sólo serotipo (Cartwright y cols. 1969; Morimoto y cols 1972; Huygelen y Peetermans 1967; Johnson y Collings 1969). Sobre éste punto son muy pocos los estudios -- realizados y por lo tanto la actividad antigénica del virus, sigue siendo un enigma.

.3.4. Resistencia del virus a temperatura y pH.

El virus es altamente resistente a fluctuaciones de temperatura y pH, es muy estable a 4°C (Cartwright + 1969) y pH de 7. Tratamientos de 56°C por 30 minutos no lo alteran y la capacidad de infectividad y de hemoaglutinación continua constante (Morimoto y cols. -- 1972). A 60°C por dos horas no pierde ninguna función (Mengeling 1972). Después de dos horas a 70°C el virus continua siendo estable, sin embargo al someterlo a 80°C por cinco minutos pierde infectividad y capa-

-cidad hemoaglutinante (Cartwright y cols. 1969). Resiste 80°C por 30 minutos a pH de 3.0 a 5.0 (Joo 1976). Mayr y cols. (1966) reportan estabilidad del virus expuesto durante 90 minutos a escalas de pH de 3 a 9, la pérdida total de infectividad ocurre con niveles de pH de 2.0 durante 90 minutos. Morimoto y cols. (1972), demuestran la estabilidad del virus en rangos de pH de 2.8 a 7.5 durante 18 horas. Los títulos de hemoaglutinación no se modifican a pH de 3 y 7 por tres horas a 57°C (Cartwright y cols. 1969). Se ha visto que a temperaturas de de -20 y -70°C, durante seis meses, los títulos de hemoaglutinación pueden sufrir una pequeña variación o bien no verse modificados en absoluto, el virus puede sufrir cambios bruscos de temperatura sin presentar ninguna alteración. (Joo 1976).

.3.5. Resistencia a agentes químicos.

El virus es ampliamente resistente a la acción de los agentes químicos. La inclusión de cloruro de magnesio no lo afecta (Morimoto y cols 1972; Huygelen y Peetermans 1967). Resiste tratamientos con éter y cloroformo por ser un virus sin envoltura (Mayr y cols. 1968). La tripsina y el desoxicolato de sodio, no tienen ninguna acción sobre el virus (Morimoto y cols. 1972), no sufre ninguna modificación al ser sometido a formalina al 0,5% por tres días o a propiolactona al 0,2% por 6 horas (Joo y cols. 1976).

Brown (1981) en un extenso estudio de agentes contra parvovirus porcino, muestra que son muy pocas las sustancias que lo inactivan, entre ellas considera que son los mejores desinfectantes contra parvovirus porcino: hipocloro de sodio, hidróxido de sodio, glutaraldehído al 2% durante 20 minutos, formaldehído a muy alta concentración, vapores de formaldehído y luz ultravioleta con un largo período de exposición.

En general el virus es muy resistente a temperatura, agentes químicos, enzimas, variaciones de pH, solventes lipídicos y desinfectantes. Su característica de no ser envuelto le confiere una amplia resistencia por ser un vi-

-rus hidrofílico. (Brown 1981).

4. Aislamiento viral.

El virus ha sido aislado de diferentes tejidos y se ha cultivado en diversas líneas celulares. (Cuadro 5).

Se ha encontrado como contaminante de líneas celulares (Hallauer y cols. 1971) e incluso en tripsina comercial procedente de hígado porcino (Croghan y cols. 1973) y en riñones afectados por cólera porcino.

En cultivos primarios de testículo, tiroides, riñones fetales de cerdo crece y se desarrolla adecuadamente. Produce efecto citopático, inclusiones intranucleares basófilas redondeadas, las partículas virales forman masas amorfas y marginación de la cromatina, hay vacuolización del citoplasma y necrosis celular. (Shahrabadi y cols. 1982).

Para el cultivo viral se debe de tomar en cuenta que no se multiplica el virus en embrión de pollo, ni en ratón mediante inoculación intracerebral o intraperitoneal. (Joo y cols. 1976 d).

1.2.2. Transmisión.

La vía de entrada del virus, generalmente es por vía oral para la cerda y la vía transplacentaria para el feto. La vía respiratoria ha sido mencionada por Mengeling (1972), al haber aislado el virus a partir de cornetes nasales, sin embargo esta vía no ha sido del todo demostrada. Lucas y cols. (1974) muestran la transmisión venérea experimentalmente. Joo y cols. (1975), proponen que es posible que verracos con infección activa puedan transmitir el virus a la cerda durante el servicio.

El verraco se contamina en el momento de la monta por contacto con el moco vaginal de cerdas infectadas y el parvovirus porcino se multiplica activamente e invade el testículo (Lucas y cols. 1974). El semental a su vez puede infectar a cerdas sanas durante el apareamiento.

A pesar de que el virus ha sido aislado de sémén, no se sabe aún si es un componente o un contaminante del sémén el responsable de la infección. (Cartwright y cols. 1971) Bonte y cols. (1984) muestran que posterior a la inoculación oronasal del virus, no llega a localizarse genitualmente en machos, encontrándose el sémén normal. Tacker y cols. (1984) muestran que no hay disturbios en la espermatogénesis, ni en la calidad del sémén.

Los estudios con respecto al papel que desempeña el sémén en la transmisión del virus han sido experimentales, sin embargo la importancia de la ruta venérea en condiciones naturales es desconocida.

La cerda presenta una fase de viremia que sucede entre 1 y 5 días post-infección (Johnson y cols. 1969) con una duración de 1 a 6 días, la cerda infectada elimina el virus en la fase aguda de la infección por heces durante 3 a 14 días. (Gualandi y Marastoni 1980),

La difusión del virus por heces, sémén y secreciones orales aumenta entre las diferentes granjas por la transferencia de cerdas jóvenes y sementales en el momento de la infección. (Timbol 1980).

No se conoce el período de supervivencia del virus en heces o material contaminado, por sus características termostables se supone que el parvovirus porcino, puede vivir por largos períodos de tiempo y probablemente el material contaminado sea un reservorio de la infección en las granjas. (Paul y cols. 1981).

Cutler y cols. (1976), demuestran la existencia de anticuerpos contra parvovirus porcino en suero de ratas de granjas infectadas, más no se ha comprobado que la rata sea transmisora del virus.

1.2.3. Patogenia.

La patogenia de la enfermedad es en muchos aspectos aún desconocida.

Una vez que el virus ha penetrado en la cerda, la vire--

-mia dura de 1 a 6 días; por vía sanguínea llega al útero gestante, el parvovirus cruza la barrera placentaria e infecta a los embriones o fetos, los cuales se verán estimulados para producir anticuerpos homólogos (si ya están capacitados para ello) (Johnson y Collings 1969; Cartwright y cols. 1971; Joo y Johnson 1976c). Los mecanismos por los cuales el virus atraviesa la placenta, así como su efecto en el embrión y feto no están bien dilucidados. (Cartwright y cols. 1971; Joo y cols. 1976). Se sabe que el parvovirus porcino difunde muy lentamente entre los fetos (Redman y cols. 1974; Mengeling y Cutlip 1975). Se ha visto que parvovirus porcino tiene tropismo por células en constante multiplicación, como son las células embrionarias y fetales, lo cual se ha establecido por cultivos de riñón fetal porcino donde el virus crece notablemente. (Cartwright 1969; Bachmann 1972).

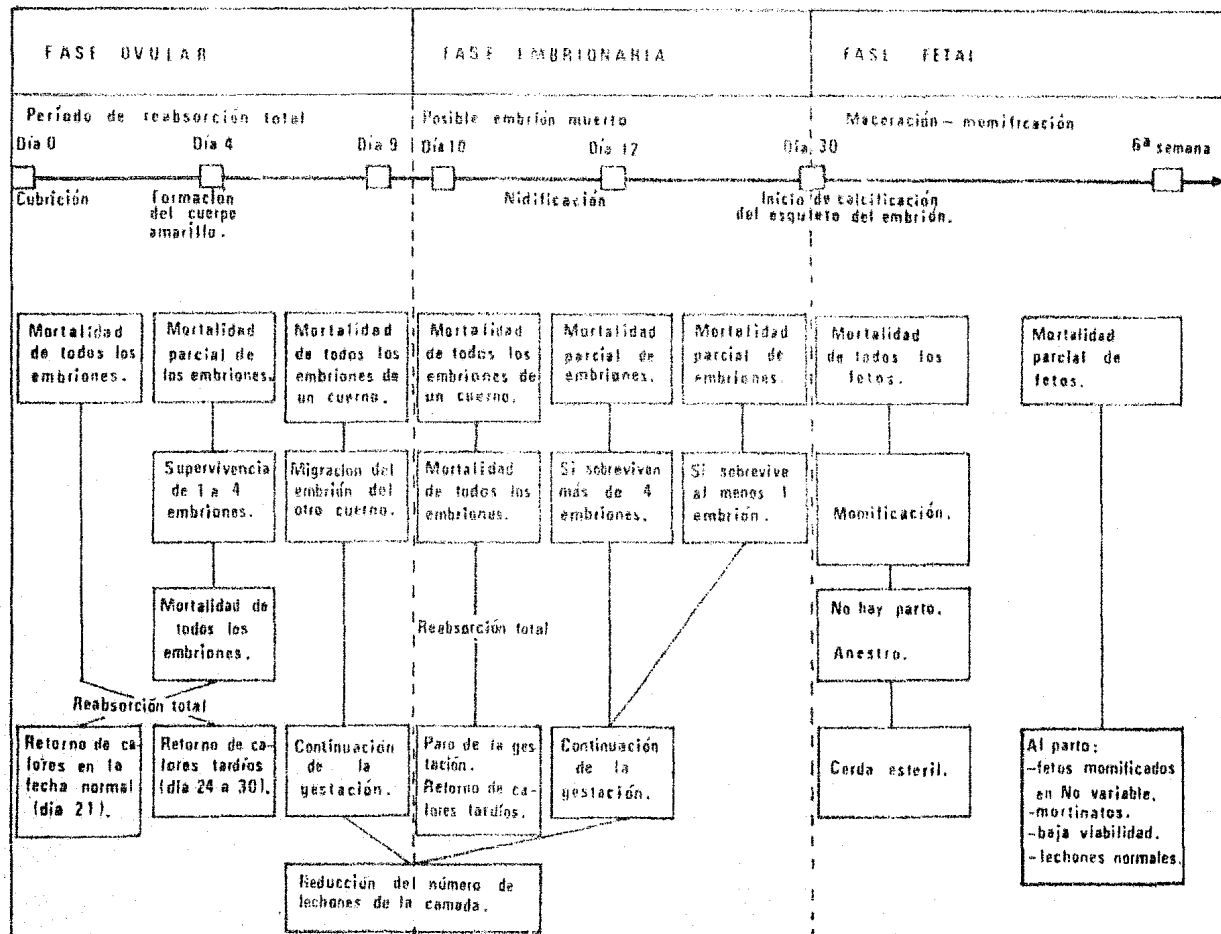
Experimentalmente se ha comprobado que al administrar el virus por vía oral, tarda 25 a 52 días en llegar al feto (Joo y cols. 1976c) y que requiere de una semana para matar a los fetos con baja resistencia. (Mengeling 1975).

La secuela de la infección depende entre otras cosas de: momento de la gestación en el que la cerda es infectada, (Esquema 1), la vía de entrada y concentración del virus, estado fisiológico de la cerda y tasa de anticuerpos circulantes. (Cartwright y cols. 1969).

La exposición de cerdas susceptibles al parvovirus porcino cerca del tiempo de concepción puede dar como resultado: pseudo preñez con cuerpo lúteo persistente sin la presencia de embriones vivos (Rodeffer y cols. 1975), infección transplacentaria, muerte y reabsorción transplacentaria con retorno al estro, las pérdidas pueden suceder en un sólo embrión o en toda la camada e incluso llegar a nacer camadas pequeñas (Mengelin 1979), siendo también factible que la infección sea subclínica. (Mengeling y Cutlip 1975).

Se sabe que si el virus afecta en etapas tempranas o tardías de la gestación (primer y tercer tercio) la infección del feto no será observable. Al suceder en el primer tercio (1 a 30 días de gestación) los embriones serán reabsorbidos y la cerda

ESQUEMA 1. Modo de acción de los virus según la fase de gestación.



retornará al calor. (Joo 1976d).

En estudios con trasplante de embriones se ha observado que el antígeno viral se adhiere a la superficie de la zona pelúcida y parece ser que el virus no penetra los blastocistos. Con esto se concluye que el parvovirus porcino no interfiere en el desarrollo de embriones en etapas tempranas, sin embargo la presencia del virus en la zona pelúcida puede ser una amenaza en el desarrollo tardío del embrión. No se descarta la posibilidad de que pudiera ocurrir una infección en el blastocisto. El virus en embriones es muy difícil de detectar, (Wrathall y Mengeling 1979). Estos aspectos son muy importantes en países desarrollados en los que se realizan las técnicas de trasplante de embriones como rutina, ya que los embriones infectados podrían ser un método de propagación del virus.

Si la infección sucede en el último tercio de la gestación (día 70 a 114) los fetos no se verán afectados ya que la registrarán adecuadamente, al llegar el virus a los fetos, montan la respuesta inmune y los productos nacen con anticuerpos contra el virus, (Cartwright y cols 1971; Johnson y Collings 1971; Cutlip y Mengeling 1975; Joo y cols. 1976d) debido a que el sistema inmune esta bien desarrollado alrededor del día 70 de la gestación. (Bachmann y cols. 1975; Joo y cols 1976 d).

Por lo tanto los efectos patológicos se restringen a fetos que son infectados entre los días 30 y 70 de la gestación (Joo y cols. 1976c; Mengeling y Cutlip 1976; Bachmann y cols. 1975; Joo y cols. 1976d), en éste periodo los fetos sufrirán momificación principalmente, el aborto no es un problema común tanto natural como experimentalmente. (Mengeling y Cutlip 1975, 1976; Donaldson-Wood y cols. 1977; Gillick 1977).

No todos los fetos infectados en éste periodo se momificarán, pueden existir mortinatos o incluso lograrse lechones aparentemente normales, ya que la expansión interfetal del virus es debida a la viremia que sufre la madre y cada feto infectado responde como una unidad autónoma dentro del útero. (Joo y cols. 1976 d).

La replicación del virus, depende de enzimas celulares producidas en asociación con la síntesis de DNA, el area de contacto entre las membranas coriónicas es donde existe menor replicación del virus en comparación con otros sitios anatómicos del feto y membranas fetales, por éstas condiciones, parece ser que el parvovirus porcino es diseminado por fagocitos (Mengeling y Cutlip 1975). Los mismos autores citan que la muerte fetal esta asociada con una multiplicación incontrolada del virus en tejidos fetales y envoltu-

-ras placentarias, en ausencia de inmunocompetencia, con la subsiguiente destrucción de sistemas celulares, a su vez se han demostrado concentraciones masivas del virus por inmunofluorescencia en tejidos de fetos momificados.

El período de sensibilidad de la cerda a la infección es restringido y limita las consecuencias de una infección por parvovirus porcino en una expletación, los riesgos son nulos, si el suero de la cerda gestante contiene anticuerpos, el virus será neutralizado antes de haber podido llegar al útero e infectar a los embriones o fetos. (Joo y cols. 1977).

Mientras que la infección en útero parece no tener efecto en camadas subsiguientes, la infección puede persistir en el tracto genital de los miembros de esa camada causándoles posteriormente fallas reproductivas. (--- Johnson y Collings 1969,1971; Cartwright y cols. 1971; - Donaldson-Wood y Johnson 1977).

1.2.4. Cuadro Clínico.

Las cerdas que padecen la enfermedad no presentan ninguna manifestación clínica durante la gestación y desarrollarán anticuerpos 7 a 9 días post-infección. (Bachmann y cols. 1975). Podrá presentarse retorno al calor si los embriones son reabsorbidos, pseudopreñez o producirse el aborto que es muy poco común, si existe momificación fetal, la cerda no tendrá ningún síntoma y cursará la gestación normalmente, al término de ella se verán mortinatos, momificaciones o camadas reducidas.

1.2.5. Lesiones.

Los cambios histopatológicos varían de acuerdo a la etapa gestacional en la cual se presenta la infección. Existe discrepancia entre los diferentes autores ya que los estudios han sido experimentales y hay gran variación de pendiente de la vía de inoculación del virus y el momen-

-to en que se hace la necropsia. Los hallazgos que comunmente se observan son los siguientes:

.1. Lesiones macroscópicas maternas.

Normalmente no existe ninguna alteración patológica en la madre, ya que el virus tiene tropismo por el feto, sin embargo, estudios realizados experimentalmente muestran que únicamente el útero puede encontrarse con material purulento adherido al endometrio en la región en que se inocule el virus. (Hogg y cols. 1977).

.2. Histopatología materna.

Puede existir acumulada de células mononucleares, plasmáticas y linfocitos en el endometrio y lámina propia. Los vasos uterinos presentan infiltración linfocitaria focal o difusa, las glándulas endometriales pueden presentar degeneración de células epiteliales en sitios donde sucedió la muerte fetal. En ocasiones se presentan infiltraciones de células plasmáticas y linfocitos en encéfalo, médula espinal y ojo (coroides). (Hogg y cols. 1977; Lenghaus y cols. 1978).

.3. Lesiones macroscópicas fetales.

La patología fetal se basa en los fetos momificados, los cuales pueden presentar hemorragias petequiales, edema, (Joo y cols. 1977), color negruzco generalizado (Lenghaus y cols. 1978), su tamaño es menor de 16 cm. (Marrable y Ash-down 1967). Se han encontrado restos de meconio en vías aéreas (Hogg y cols. 1977), las placentas están edemáticas con depósitos de calcio (Joo y cols. 1977), deshidratadas y con reducción de fluidos fetales (Lenghaus y cols. 1978). Existe presencia de fluidos hemorrágicos en vísceras: el hígado, riñón y pulmón están aumentados de tamaño y emnegrecidos por la congestión (Joo y cols. 1977; Prozesky y cols. 1980), además de ser muy friables (apreciación personal). Los vasos sanguíneos del hígado, riñón, pulmón y encéfalo se encuentran congestionados y hemorrágicos. (Joo y cols. 1977).

.4. Histopatología fetal.

Se considera la lesión más importante la hipertrofia e hiperplasia de células endoteliales en arteriolas, capilares

y venas (Prozesky y cols. 1980), con infiltración difusa o focal de células mononucleares, linfocitos y células plasmáticas (Hogg y cols. 1977; Prozesky y cols. 1980), éstas lesiones pueden presentarse en órganos donde el tejido conectivo este desprendido. (Hogg y cols. 1977).

Sistema nervioso: El encéfalo, meninges, plexo coroideo, sustancia gris y blanca, presentan infiltración mononuclear en el parénquima; los macrófagos pueden estar pigmentados con hemosiderina cerca de vasos sanguíneos en fetos muy lesionados. (Hogg y cols. 1977; Joo y cols. 1977; Prozesky y cols. 1980). En fetos viejos se encuentran lesiones significativas como son: cerebro con acumulación perivascular de células adventicias, células plasmáticas y mononucleares (Joo y cols. 1977).

Sistema respiratorio: Las lesiones varían desde acumulación de células picnóticas en bronquiolos que en exceso pueden llegar a una bronconeumonía (Hogg y cols. 1977), acumulación de polimorfonucleares y células necróticas en bronquios y alveolos, parénquima con infiltración difusa de neutrófilos. (Prozesky y cols. 1980).

Sistema linforeticular: Existe aumento de células mononucleares, particularmente en nódulos linfáticos y bazo (Hogg y cols. 1977) aumento de linfocitos y linfoblastos en ganglios hepáticos (Prozesky y cols. 1980).

Sistema gastrointestinal: Presencia de células mononucleares en lámina propia muy marcada en mesenterio (Hogg y cols. 1977) y en submucosa intestinal (Lenghaus 1978). En esófago existe infiltración leucocitaria alrededor de glándulas subepiteliales (Forman y cols. 1977). En el hígado se presenta aglomeración de mononucleares en el área portal, hepatitis intersticial (Joo y cols. 1977), degeneración hialina y estasis de bilis (Prozesky y cols. 1980).

Riñón: Las células linfoides forman nódulos en la médula renal (Hogg y cols. 1977), acumulación de mononucleares alrededor del glomérulo, nefritis intersticial (Joo y cols. 1977), en fetos muy lesionados hay necrosis de células epiteliales de los túbulos renales en la corteza, con infiltración de linfocitos y células plasmáticas. (Prozesky y cols. 1980).

Ojo: El iris es el más afectado, la superficie anterior de éste

presenta infiltración de células mononucleares, la cámara anterior se adhiere al endotelio corneal, la retina y córnea no sufren modificaciones. (Hogg y cols. 1977).

Placenta: Existe infiltración focal o difusa de polimorfo nucleares (Lenghaus y cols. 1978) con degeneración y necrosis de células epiteliales y autólisis (Hogg y cols 1977). Mineralización y desprendimiento de tejido conectivo en alantoides y corion. La necrosis placentaria es un hallazgo común y es el resultado de la muerte embriónica que precede el depósito de calcio fetal. (Croper y cols. 1976).

Lenghaus y cols. (1978) citan la existencia de necrosis y mineralización en pulmón, riñón, corazón, hígado y músculo esquelético en fetos muertos a los 11 días post-inoculación.

Se sabe que existe relación entre la cantidad de anticuerpos y la severidad de las lesiones, fetos con título de 1:256 presentan lesiones moderadas o mínimas, mientras que fetos con títulos superiores a 1:2048 tienen daños muy severos. (Forman y cols. 1977).

1.2.6. Diagnóstico Clínico.

.1. Detección del antígeno viral en momias.

Cuando el feto por la acción del parvovirus porcino se ha momificado, el virus se encontrará en grandes cantidades en los diversos órganos afectados, principalmente en hígado y pulmón entre otros, lo cual se puede detectar y medir a través de estudios de laboratorio. Es por eso que una de las técnicas de rutina para la identificación del virus es la hemoaglutinación, la cual por su sencillez y sensibilidad permite saber junto con la técnica de inmunofluorescencia si el virus está o no presente en los fetos momificados. La técnica de hemoaglutinación es muy recomendada ya que para llevarla a cabo no necesita de cultivos celulares, (--

(Vannier y Tillon 1979), sin embargo el virus pierde rápidamente su poder infectante en fetos momificados. (Joo y cols. 1976d).

Prueba de Hemoaglutinación:(HA), se realiza ya que la hemoaglutinina del parvovirus porcino como propiedad de la partícula intacta, que al reaccionar con los eritrocitos adecuados es medible e indica en que cantidad se encuentra el virus en los diferentes órganos una vez que se han macerado éstos. Los títulos de HA producidos in vitro varían dependiendo del tipo de eritrocitos con que se trabaja, se recomienda utilizar por su facilidad de obtención y óptimos resultados: eritrocitos de cobayo (Mayr y cols. 1968), rata, humano tipo O positivo y ratón. De igual manera los resultados varían de acuerdo a la cantidad de virus existente en los tejidos, así como el estado inmune de los fetos y momento de la infección, considerándose títulos significativos de infección: 1:1,024 (Mayr y cols. 1968), Joo y cols. (1975) demuestran títulos de 1: 65,536. Los títulos pueden variar entre los diferentes fetos de una misma camada, debido a la tolerancia individual de cada uno al virus (Johnson y Collings 1971). Mientras más pequeños sean los fetos momificados, se obtendrán títulos más altos de hemoaglutinación, al ser los fetos más grandes se obtendrán títulos altos en la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (Joo y cols. 1976), esto se explica ya que los fetos pequeños menores de 16 cm. fueron infectados antes de que el sistema inmune estuviera desarrollado, es por eso por lo que el feto no puede responder a la infección y por lo tanto se encontrarán grandes cantidades del antígeno viral en los tejidos fetales, mientras que fetos mayores de 16 cm. habrán tenido la capacidad de desarrollar anticuerpos contra el virus y no poscerán antígeno viral, por lo tanto el nivel de anticuerpos será detectable por la técnica de inhibición de la hemoaglutinación. (Joo y cols. 1976 a y b).

Otra técnica para la detección del antígeno viral es la inmunofluorescencia, sin embargo es más complicada y difícil su elaboración, por lo cual no es un método de rutina en países no desarrollados, para la identificación del virus.

Inmunofluorescencia.(IF): La detección del antígeno viral por inmunofluorescencia sólo es posible en fetos en los cuales el sistema inmune no esté desarrollado (antes de los 70 días de --

gestación) (Joo y cols. 1976). El virus por IF no puede ser detectado en fetos no momificados (90 a 98 días de gestación), sin embargo el virus puede ser aislado en tejidos en los cuales el nivel de anticuerpos contra el virus son muy altos. (Joo y cols. 1977). La IF se observa en fetos con 62 días de gestación, en hígado (hepatocitos), pulmón (células epiteliales del alveolo), páncreas, testículo riñón (tejidos intertubulares y a veces glomérulo), glándulas adrenales y ganglios linfáticos regionales (Cutlip y Mengeling 1975). La IF que se observa, ocurre en todas las áreas de células afectadas, en general en núcleos y gránulos del citoplasma (Cutlip y Mengeling 1975). En todos los tejidos positivos la fluorescencia es bloqueada por antisero homólogo a parvovirus porcino. (Thacker y cols. 1981). Es necesario determinar si la fluorescencia citoplasmática observada antes de la fluorescencia nuclear en las células infectadas por el virus es debida a la síntesis de proteína viral o a la fagocitosis de agregados del antígeno viral en el inóculo. Estudios al respecto muestran que la fluorescencia es debida a la fagocitosis de los agregados del antígeno viral, sin embargo es posible que la cantidad de proteína viral sintetizada sea demostrable, debida a la gran multiplicación del virus en algunas células. (Mengeling 1972).

2. Detección de anticuerpos contra parvovirus porcino en fetos.

Inhibición de la Hemoaglutinación: (IHA). Esta prueba es recomendada para detectar el nivel de anticuerpos en fetos debido a su sensibilidad (Bachmann 1969; Cartwright y cols. 1969; Mengeling 1972; Johnson 1973; Joo y cols. 1975). Se sabe que en fetos momificados no existen anticuerpos circulantes, por lo cual ésta técnica se realiza en mortinatos mayores de 16 cm. o en lechones vivos en que se sospeche de la infección por parvovirus porcino. (Sørensen y Askaa 1981). La técnica de IHA se deberá realizar con el mismo tipo de eritrocitos que se hayan utilizado en la prueba de hemoaglutinación.

En granjas infectadas con parvovirus porcino, las cerdas con mas de 1 año de edad casi en su totalidad poseen anticuerpos contra el virus y por lo tanto sus camadas recibirán en general inmunidad materna en el calostro. El índice de anticuerpos en el calostro puede ser muy alto (10,000 a 40,000 unidades IU) y la edad hasta la cual los cerdos serán protegidos de la infección está directamente relacionada con la concentración de anticuerpos que reciban de su madre. En suero de lechones se han visto títulos muy altos de anticuerpos 8 horas después de la toma de calostro (Ursache y Vallet 1984).

La serología permite identificar a los lechones infectados en útero, ya que mostrarán tasas muy elevadas de anticuerpos que permanecerán así alrededor de 8 meses (Zupanec 1977), en contraste con lechones que hayan adquirido inmunidad calostrala, la cual baja a partir de las 6 semanas para desaparecer alrededor de las 21 semanas (Johnson y cols. 1976). Después de la exposición a un antígeno, el sistema inmune del feto es capaz de producir inmunoglobulinas alrededor de los 2 meses de gestación, por eso el parvovirus porcino al atravesar la placenta aumenta la síntesis de inmunoglobulinas y anticuerpos específicos en el feto. (Binns 1967; Fennestad y cols. 1968; Johnson y Collings 1971 Bourne y cols. 1974). El suero precalostrala en lechones, presenta trazas de inmunoglobulinas tipo G y A (Prokesova y cols. 1969 Prokezova y Rejnek 1971; Jönsson 1973). Por lo tanto cuando se realiza la prueba de IHA en lechones, es necesario que no hayan tomado calostro para poder determinar una infección transplacentaria. (Vannier y cols. 1975).

La determinación de inmunoglobulinas y en especial de IgM e IgG en fetos, es sugerido como prueba para infecciones intrauterinas (Dalsgaard y cols. 1979). La IgG es detectable en los recién nacidos o en fetos recién infectados al ser estimulados por un anticuerpo específico. La IgM e IgA en el suero fetal se correlaciona a una estimulación antigénica o a la presencia de un anticuerpo detectable (Redman y cols. 1974). IgA es difícil de encontrar en suero de fetos recién infectados, son detectables los niveles en etapas tardías de la infección, en general la IgA se detecta en cerditos que sobreviven a la infección. (Redman y

cols. 1974). Estudios realizados por Donaldson-Wood y John (1977), muestran títulos de 1:55,536 a las 10 semanas de gestación, lo cual muestra que existe inmunidad activa adquirida en útero (Johnson y cols. 1976). Sin embargo títulos de 1:4,096 son indicadores de un buen estado inmune. La IgM es la inmunoglobulina predominante en la respuesta temprana a parvovirus porcino (Bourne y cols. 1974), aunque puede también verse involucrada IgG en la respuesta inmune primaria (Kim y cols. 1966). Estudios experimentales muestran que la respuesta inmune en lechones se da 9 días después de la inoculación directa del virus. (Bachmann y cols. 1975).

El fluido folicular y el suero contienen títulos similares de anticuerpos contra parvovirus porcino, ya que se sabe que el fluido folicular del ovario es un filtrado de la sangre (Zachariae 1958), por lo tanto existen niveles similares de anticuerpos neutralizantes (Whitemore y cols. 1977).

3. Aislamiento e Identificación viral a partir de fetos momificados.

El parvovirus porcino se ha aislado de zahurdas con historia clínica de mortinatos, pérdidas neonatales, infertilidad, abortos, momificaciones totales o parciales, lechones con hipoplasia miofibrilar, hembras con descargas vaginales, sémen de sementales con baja fertilidad (Cartwright y cols. 1969), de lechones con atrofia de mucosa intestinal (Johnson y Collings 1971), de ovarios de cerdas infértiles (Johnson 1973), de tracto respiratorio (Fujisaki y cols. 1975), de pulmones neumónicos (Darbyshire y Roberts 1968), de cornetes de cerdos con rinitis (Mengeling 1972) y se atribuye a que ciertos parvovirus son osteofíticos (Toolan 1968), a partir de cultivos celulares de riñón fetal porcino aparentemente normales o incluso a partir de cerdas clínicamente normales (Bachmann 1969; Coackley y Smith 1972; Johnson 1973; Mengeling 1975) y en tripsina comercial de hígado porcino, (Croghan y cols. 1973), se encontró también como contaminan

-te de cólera porcino en cultivos celulares infectados (Mayr y Mahnel 1966; Huygelen y Peetermans 1967; Horzinek y cols. 1967; Mayr y cols. 1968). El virus ha sido recuperado en grandes cantidades en: amnios, fluido amniótico, riñón, hígado pulmón y bazo (Cutlip y Mengeling 1975) y encéfalo principalmente. En fetos recién nacidos se puede aislar el virus de tejido linfóide (Fujisaki y cols. 1975; Vannier y cols. 1976) y a partir de heces de lechones o hembras con buen estado inmune. (Cartwright y cols. 1969).

Con respecto al crecimiento del virus in vitro se sabe que: el parvovirus porcino tiene tropismo por células en constante multiplicación (Bachmann 1972). Cartwright y cols. (1969) han visto gran replicación del virus en células jóvenes como son los cultivos primarios de riñón (PPK) inoculados 3 o 4 días post-preparación. Pirtle (1974) reporta altos títulos en cultivos de tiroides. Sólo bajo óptimas condiciones de confluencia del cultivo y con altos niveles de virus, se hace evidente el efecto citopático. Además se ha visto que el suero de becerros que generalmente se utiliza en cultivos celulares parece contener inhibidores del crecimiento viral, por lo cual medios que contengan éste tipo de suero pueden interferir con el aislamiento del virus a partir de tejidos fetales. (Coackley y Smith 1972; Johnson 1973). La gran mayoría de sueros bovinos, poseen inhibidores de la hemoaglutinación (Joo y cols. 1976) y ocasionalmente pueden contener anticuerpos específicos contra parvovirus porcino que no son removibles con tratamientos con kaolín, (Joo y cols. 1976d).

El aislamiento viral no es fácil, ya que el virus requiere un período de alrededor de 30 días (Johnson 1973) en condiciones estables, tal vez por que existen muchos inhibidores inespecíficos (Johnson y Collings 1969) o por que las partículas virales procedentes de tejidos momificados estén cerca de la inactivación. (Mengeling y cols. 1975). El efecto citopático que produce no es del todo observable, en ocasiones se requiere la detección de inclusiones nucleares con hematoxilina-eosina (Cartwright y cols 1969), fluorescencia específica o hemoaglutinación de fluidos de cultivo (Mengeling y cols. 1975). El efecto

citopático varía de acuerdo al estado del cultivo, la vacuolización del citoplasma es apreciable 2 a 3 días post-inoculación del virus en el cultivo celular; posteriormente se puede apreciar necrosis gradual de la membrana celular (7^o u 8^o día), sin embargo la observación de éste efecto no es un método satisfactorio para la detección del virus y su titulación ya que no es del todo observable. (Cartwright y cols 1969).

Los cultivos teñidos con hematexilina-eosina, muestran inclusiones intranucleares 16 horas post-inoculación, las inclusiones son eosinofílicas y granulares en estadios tempranos, posteriormente la tinción es más densa y las inclusiones aparecen en el citoplasma seguida por necrosis celular (Cartwright y cols. 1969). En cultivos celulares se ha observado la persistencia del antígeno viral en el núcleo de algunas células después de larga incubación y se sugiere que el ciclo de replicación del virus no se completa en esas células, sin embargo la razón no es conocida (Mengeling 1972). Apparently el virus induce cambios citopáticos que ocurren en cultivos celulares con producción de antígeno viral, posiblemente éste tipo de reacción celular es el resultado de la infección en un tiempo determinado del ciclo de replicación viral. (Mengeling 1972).

Debido a que el aislamiento del virus es muy difícil, la identificación del mismo, en tejidos fetales es muy importante, se considera que títulos positivos en HA o en IHA son pruebas que permiten detectar y afirmar que se trata de parvovirus porcino (Vannier 1976) ya que es el único virus causante de problemas reproductivos capaz de inhibir la HA, si a éstas pruebas se adiciona la técnica del éter y cloroformo (Todos los autores citados en el cuadro 5), no habrá duda alguna de que el virus en prueba no posee envoltura; por lo cual éstas tres técnicas son suficientes para afirmar la identificación del virus. Aunque es necesario aclarar que no son las ideales, ya que pueden existir ciertas inexactitudes, lo mejor sería hacer pruebas de IF como diagnóstico de rutina, que es la que se utiliza actualmente en países desarrollados (Vannier 1985, comunicación personal), sin embargo en nuestras circunstancias no es posible, por lo que se siguen utilizando las técnicas de HA, IHA y éter y cloroformo.

.4. Detección de anticuerpos contra Parvovirus Porcino en cerdas.

Uno de los métodos más recomendables para conocer el estado inmune contra parvovirus porcino es el estudio serológico - en las madres, mediante pruebas de IHA, ya que la serología traduce el estado inmunitario de la zahurda y nos conduce a establecer un perfil serológico de la explotación. El efecto de la inmunidad materna en la diseminación intrauterina del virus, no está aún dilucidado, sin embargo por estudios experimentales en el aislamiento del virus, se sugiere que los anticuerpos maternos pueden influenciar la sensibilidad del corio-alantoides para la replicación del virus. (Cutlip y Mengeling 1975).

Posterior a la etapa de viremia, las cerdas desarrollan anticuerpos 6 a 10 días post-infección, los cuales alcanzan - su título máximo alrededor de 1:16,384 en dos o tres semanas (Joo y cols. 1976d) éste nivel irá bajando paulatinamente y persistirá con pocos cambios de 15 meses a cuatro años (Johnson y cols. 1976).

Por lo tanto es importante mantener alto el nivel de anticuerpos en las madres, para evitar posibles reinfecciones. Los títulos de IHA en suero son muy variables y van desde 1:512 a 1:40,960 (Lucas y cols. 1974). No existe correlación entre los títulos de anticuerpos en suero y la presencia de infección fetal en cerdas (Lucas y cols. 1974). En general el problema de parvovirus porcino es de cerdas jóvenes primíparas, las adultas que hayan padecido la enfermedad pueden llegar a verse afectadas raramente (Redman y cols. 1974). Sólo los animales que presenten título de anticuerpos superiores a 1:320 se les considera que tuvieron contacto con el virus; cuando existe la infección por Parvovirus porcino en una granja, los títulos de anticuerpos se muestran muy elevados y pueden variar de 1:1,280 a 1:10,240 (Vannier y cols. 1977).

En cuanto al nivel de anticuerpos no se puede generalizar ya que éstos varían en las diferentes explotaciones y países, de manera general se acepta que el 98% de animales mayores de 12 meses de edad en zonas infectadas de manera endémica, muestran títulos de anticuerpos mayores a 1:1024. Estudios serológicos, muestran que puede existir buen nivel de anticuerpos y sin embargo la infección vuelve a presentarse aunque con menor intensidad. (Ursache y Vallet 1984).

No se puede incriminar al parvovirus porcino en los problemas reproductivos por la sola presencia de anticuerpos contra él, es necesario realizar pruebas de diagnóstico diferencial con otras infecciones. (Ursache y Vallet 1984).

La interpretación de estudios serológicos, nos permite distinguir diferentes imágenes inmunológicas, es posible que dentro de las diversas explotaciones se encuentre que;

- I-. Todos los animales poseen títulos muy elevados de anticuerpos homogéneos, donde todos los problemas de la reproducción son improbables y una nueva introducción de animales sensibles, no es recomendable.
- II-. Explotaciones donde todos los animales muestran tasas de anticuerpos homogéneos débiles y una cinética de anticuerpos es necesaria para determinar el curso de la infección. (estado de evolución o regresión).
- III-. Explotaciones donde existen animales seropositivos y animales desprovistos de anticuerpos, donde los problemas de la reproducción ya han aparecido o son inminentes.
- IV-. Explotaciones serológicamente negativas, en un gran número de casos los animales manifiestan problemas que evocan una infección por parvovirus porcino. (Ursache y Vallet 1984).

Lo ideal es realizar pruebas serológicas en todas las cerdas de la explotación y conociendo sus niveles de anticuerpos establecer medidas de control adecuadas.

1.2.7. Control.

Es importante llevar a cabo buenas medidas de control para evitar una infección por parvovirus porcino, éstas se basan principalmente en el manejo y la higiene.

Según el estado de la explotación los métodos de control son:

En granjas donde no existe la enfermedad: a fin de evitar la contaminación de una explotación sana, se deben de efectuar controles serológicos sobre los animales de reemplazo (ésto es recomendable para todas las enfermedades infecciosas) y se aceptarán sólo los animales que sean negativos.

En granjas donde la enfermedad esté presente: Una vez que la enfermedad existe en una población porcina, la infección no es reversible, por lo que se debe aprender a vivir con ella. (Ursache y Vallet 1984).

Se recomienda dar restos de placenta o fetos infectados en el alimento a las cerdas susceptibles de padecer la enfermedad (Wrathall 1975; Walton y cols. 1980). Dar heces de animales infectados mezclados con alimento a hembras o machos destinados a la reproducción, sin embargo no se sabe que tan efectivo sea éste método de control de la enfermedad, algunos autores recomiendan que dicha práctica se realice tres semanas antes del empadre, sin embargo se ha observado que ese tiempo no es suficiente para lograr una buena inmunidad, (Rodeffer y cols. 1975). Por los métodos antes descritos se pueden exacerbar otros agentes patógenos en las granjas, por lo que al realizar tal manejo, se requiere de cuidados especiales y no practicarlos indiscriminadamente. (Timbol 1980).

Se recomienda que las cerdas o verracos jóvenes destinados a la reproducción tengan contacto con los reproductores y su excremento, mucho antes de su entrada a la actividad reproductiva; al empezar ésta se realizarán pruebas serológicas para conocer su estado inmunológico. (-

(Ursache y Vallet 1984).

La prevención de la enfermedad no es fácil, ya que durante la recría, las cerdas jóvenes no se inmunizan (como sucede en el caso de los enterovirus), a pesar de convivir con el resto de las madres. Al perder la inmunidad pasiva materna que poseen, son susceptibles a la infección, por lo cual en éste momento se deben de llevar a cabo métodos de infección controlada lo cual deberá realizarse también en cerdas de recemplazo. (Rodeffer y cols. 1975).

1.2.8. Profilaxis.

Debido a los problemas que provoca Parvovirus porcino en las explotaciones, en los últimos años se han producido diversas vacunas, las cuales son efectivas como prevención de la enfermedad.

Existen presentaciones de vacunas inactivadas, fraccionadas y atenuadas. (Cuadro 6).

Vacunas Inactivadas.

Serotipo PV 9. (Joo y Johnson 1977). Vacuna inactivada con 0.2% de β propiolactona ó 0.5% de formalina, con o sin gel de hidróxido de aluminio al 2% como adyuvante que mantiene el poder de inmunogenicidad. Ventaja: no presenta ningún problema al aplicarla a cerdas en diferentes estadios de gestación. Desventaja: en comparación con vacunas vivas, se debe de revacunar durante toda la vida reproductiva del animal. Se puede almacenar a 4°C durante 6 meses sin ningún problema.

Serotipo NADL-2 (Mengeling 1979), Inactivada con 0.3% de acetileneimina, con 10% de hidróxido de aluminio como adyuvante. Aplicación antes de la gestación, 2 dosis de 5 ml, con 15 días de intervalo entre una y otra. Ventaja: da una magnífica protección a los fetos. Desventaja: con el tiempo pierde poder hemoaglutinante y baja la activi-

-dad antigénica.

Serotipo NADL-8 (PPV) más cepa Indiana (PRV). (Mengeling y cols. 1980). Vacuna bivalente inactivada contra parvovirus porcino y pseudorabia. Con 0.5% de acetileneimina con 10% de hidróxido de aluminio como adyuvante, dosis: 4 ml. vía intramuscular, dos dosis con intervalo de 15 días. Ventajas: reacciona muy bien, mejorándose los resultados si se expone a un solo virus, GTM 207 en ambas vacunas. Desventaja: reacción local marcada.

Serotipo PV 9. (Cutler y cols. 1980). Inactivada con formalina al 0.4% con 10% de hidróxido de aluminio como adyuvante. Existen problemas ya que parece que la formalina destruye las proteínas virales y no existe una respuesta inmune adecuada.

Serotipo 893. (Lei y cols. 1980). Crecida en cultivo primario de riñón porcino, inactivada con etileneimina 5mM, tiosulfato como neutralizante, hidróxido de aluminio al 1.5% como adyuvante y silicona 20 ppm. Se encontró que la población de partículas vacías son las de mayor actividad antigénica.

Serotipo CVL 1243. (Wrathall 1984). Virus inactivado con etileneimina binaria al 5% con aceite mineral como adyuvante, nombre comercial: Suvaxyn parvo. Una o dos dosis con intervalos de 14 días, produce un alto título de anticuerpos en suero materno, pudiéndose suministrar a cerdas por vía intramuscular hasta con 40 días de gestación sin ningún problema, con GTM de 686 en la primera vacunación y 4,777 en la segunda.

Vacunas Fraccionadas.

Fracciones de cápside. (Molitor y Joe 1982). Proteínas A, B y C de cápside más adyuvante completo de Freund al 50%.

Vacunas Atenuadas.

Serotipo NADL-2. (Paul y Mengeling 1980). Atenuada a través de 36 pases en cultivos de riñón porcino y 18 pases en línea celular de testículo. Ventaja: la cerda desarrolla buenos títulos de anticuerpos con la segunda vacunación. Desventaja: la vacuna

Cuadro 6. Vacunas existentes contra Parvovirus Porcino.

SEROTIPO	PRESENTACION	AUTORES Y PAIS
	INACTIVADA	
PV 9	Formalina 0.5%+gel de hidróxido de aluminio al 2 %	Joo y Johnson, Australia (1976).
PV 9	Propiolactona 0.2%+ gel de hidróxido de aluminio al 2%	Joo y Johnson, Australia, (1976).
NADL-2	Acetiletilencimina 0.3%+ hidróxido de aluminio 10%	Mengeling, E.U.A. (1979).
NADL-8 (PPV) INDIANA (PRV)	Bivalente, acetiletilencimina 0.3%+ hidróxido de aluminio 10%	Mengeling y cols. E.U.A. (1980).
PV 9	Formalina 0.4% + hidróxido de aluminio 10%	Cutler y cols. E.U.A (1980).
893	Etilencimina 5 mM + hidróxido de aluminio 1.3%	Lei y cols. Dinamarca.
CVL-1243	Etilencimina binaria 5% + aceite mineral	Wrathall, Gran Bretaña, (1984).
	FRACCIONADA	
	Proteínas A, B, C de cápside + adyuvante completo de Freund 50%	Molitor y Joo, E.U.A. (1982).
	ATENUADAS	
NADL-2	36 pases en cultivo primario de riñón porcino y 18 pases en línea delular de testículo.	Paul y Mengeling E.U.A. (1982).
HT (90 HS)	54 pases en cultivo primario de riñón porcino a baja temperatura	Fujisaki y cols. Japón, (1982).

no cruza la barrera placentaria, no se recomienda a cerdas gestantes,

Serotipo HT (90 HS). (Fujisaki y cols. 1982). Atenuada con 54 pasajes en cultivo de riñón fetal porcino a baja temperatura con formalina al 0.4% e hidróxido de aluminio al 10%. En el paso 54 la cepa de origen sufre algunas variantes y se denomina HT strain, el virus se adapta a otras temperaturas. Los títulos de anticuerpos se retienen por más de 11 semanas.

En general ninguna vacuna presenta efectos secundarios y poseen una confiabilidad del 90%.

En granjas con la enfermedad endémica es más recomendable y eficiente la vacunación inactivada. La inmunidad pasiva en bajos niveles puede interferir en la inducción de la inmunidad activa, dicha interferencia parece ser mínima con la vacuna inactivada. (Johnson y Collings 1971). Con una vacunación adecuada que inhiba la diseminación viral, es posible eliminar al parvovirus porcino de una explotación. (Paul y cols. 1980). Tal vez exista interferencia entre la inmunidad pasiva y la vacuna (Mengeling y cols. 1979), la inmunidad pasiva interfiere con la inmunidad dada por la vacuna viva, pero no con la vacuna inactivada (Joo y Johnson 1977). El intervalo entre la primera y la segunda vacunación es importante en la estimulación de anticuerpos; los mejores títulos se obtienen al suministrar la segunda vacuna 3 o 4 semanas después de la primera vacunación. (Joo y cols. 1984).

En México no se produce ninguna vacuna, sin embargo existe en el mercado una vacuna inactivada, importada de los Estados Unidos, cuyo nombre comercial es Parvo-pro (Laboratorio Salsbury). Se recomienda administrar 2 ml, a las cerdas 8 a 2 semanas antes de la monta y a los machos a los 8 meses de edad con revacunación anual. No existen datos fidedignos de la efectividad de dicha vacuna.

Estudios experimentales realizados por Mengeling y cols. (1984), muestran que existe otra posibilidad profiláctica basada en la actividad de anticuerpos monoclonales, los cuales parecen tener actividad neutralizante contra parvovirus porcino y persisten en la circulación varias semanas dependiendo del título ini-

-cial e isotipo que se administre.

1.2.9. Epizootiología.

El parvovirus porcino es el principal agente responsable de muerte prenatal en granjas de cría (Cartwright y Huck 1967; Mengeling y cols. 1975; Narita 1975; Gillick 1977; Donaldson-Wood y cols. 1977; Mengeling 1978) y de problemas patológicos reproductivos en cerdos (Gagnon y Dulac 1979; Ursache y Vallet 1984). Se sabe que cuando el virus se introduce en piaras negativas, la morbilidad alcanza el 100% en menos de tres meses, la mortalidad en madres es del 8% y en la camada es variable del 10 al 100% (Donaldson-Wood y cols. 1976).

Los lechones de cerdas inmunes desarrollan altos niveles de inmunidad pasiva, la cual perdura durante 21 semanas (14 a 36 semanas), la inmunidad activa se desarrolla en un 99% en cerdos de 12 meses de edad (Johnson y cols. 1976). Los cerditos que han sido infectados en útero que dan inmunes al menos durante 9 semanas (Johnson y Collings 1971), incluso muchos fetos son expuestos al virus durante el nacimiento. (Mengeling 1973).

Se considera que una proporción del 2 al 47% de cerdas a primer servicio pueden ser susceptibles a la infección. En granjas que viven con la enfermedad, la introducción de animales jóvenes sin período de adaptación se traduce en la contaminación de éstas, además la multiplicación del virus puede favorecer la reinfección de los animales de dicha explotación. (Mialot 1981). Se ha visto que en una misma explotación no todas las cerdas sufren fallas reproductivas, esto se puede deber a la resistencia en fluidos fetales, placenta o al tiempo de virulencia del virus. (Rodeffer y cols. 1975).

Con respecto a la situación del Parvovirus Porcino en México, es muy poco lo que se sabe; Ciprián y cols. (1982, 1983) identificaron el virus en títulos muy altos en animales de rastro, sin embargo son nulos los trabajos hasta el momento, por lo que se desconoce la problemática real del virus en nuestro país, así es necesario realizar estudios a nivel de campo que permitan profundizar al respecto y tener una idea clara de la enfermedad en nuestro medio, ya que hasta el momento sólo se presuponen datos con respecto a ésta enfermedad. Es por esto por lo que nos avocamos a la tarea de hacer un estudio serológico en granjas, que aunque no es tan extenso como se hubiera deseado nos permite tener una idea más concreta del problema en México.

2. OBJETIVOS

Objetivo general: Conocer el problema de Parvovirus Porcino en diferentes granjas del Estado de México, para así poder aplicar medidas de control, ya que en otros países se considera el principal problema de falla en la reproducción.

Objetivos Específicos:

- Detectar el problema de Parvovirus Porcino en granjas, mediante historia clínica de falla de la reproducción.
- Identificar el Parvovirus Porcino en fetos momificados mediante pruebas de hemoaglutinación (HA), inhibición de la hemoaglutinación (IHA), sensibilidad a éter y cloroformo y microscopía electrónica.
- Estudio serológico en vientres, por pruebas de inhibición de la hemoaglutinación, para detectar el estado epizootiológico de las granjas.
- Estudiar un método fácil y rápido de obtención de sangre, que permita la titulación de sueros, sin provocar estados de tensión en las cerdas.

3. MATERIAL Y METODOS

La elaboración de éste trabajo se dividió en dos partes:

3.1. Identificación del virus.

3.2. Estudio serológico de cerdas en granjas.

3.1. Identificación del Parvovirus Porcino.

Se recolectaron 23 fetos momificados en tres granjas del Estado de México, en las que existen problemas reproductivos y tres fetos en el rastro de Ferrería de la ciudad de México. Los fetos momificados no requieren necesariamente de congelación, fueron transportados en refrigeración.

Preparación de muestras. (Vannier y Tillon 1979, modificada en el laboratorio).

A los fetos momificados se les quitó la placenta, se lavaron y midieron a fin de conocer la edad al momento de la muerte (por lo general eran menores a 16 ca. por lo que tenían menos de 70 días de gestación cuando fueron afectados por el virus). A continuación se incidió ventralmente en línea media y se procedió a obtener el hígado y pulmón, dichos órganos fueron macerados por separado en Tembreek con PBS completo de Dulbecco pH 7.2 en proporción 1:10, posteriormente se sometieron a tres ciclos de congelación a menos 70°C y descongelación a 37°C, a continuación fueron centrifugados 30 minutos a 3,000 rpm., se obtuvo el sobrenadante y se congeló a menos 70°C.

Prueba de Hemoaglutinación: (HA): (Clarke y Casals 1958; Joo y cols. 1976a; Vannier y cols. 1977; Duret 1979).

Principio: El parvovirus porcino es capaz de hemoaglutinar eritrocitos de cobayo y humano tipo O positivo entre otros. La muestra de virus sospechoso se diluye y se adicionan los eritrocitos. El título se mide en función de la última dilución en que se presente la hemoaglutinación.

Material: Muestra de virus sospechoso.

Suspensión de eritrocitos de cobayo o humano tipo O positivo al 0.5%.

Buffer de fosfatos.

Virus control, el cual posee un título de 1:256, obtenido por Ciprián y cols. (1982).

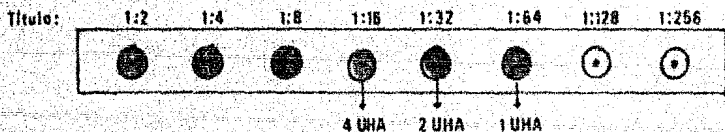
Preparación: Se requiere de PBS pH 7.2 mas 0.1% de fracción V de albúmina bovina (Buffer BABS).

Eritrocitos: Por punción intracardiaca en cobayo se obtuvieron los eritrocitos, se suspendieron en solución de Alsevers estéril se reposaron 12 a 24 horas y posteriormente fueron lavados con PBS pH 7.2 tres veces mediante centrifugación, las dos primeras veces 10 minutos a 1,000 rpm. y la tercera 15 minutos a 1,500 rpm., posteriormente se resuspendieron en PBS con albúmina (BABS para tenerlos al 0.5%, volumen en el que se calcula que existen 25×10^6 eritrocitos por mililitro. (Ursache y Vallet 1984).

Titulación del virus: Se utilizaron placas de microtitulación con fondo en "U" (Behring, Hoechst), en cada pozo de dilución de la microplaca se colocaron 0.025 ml. de BABS, a continuación se tomaron 0.025 ml. de la muestra sospechosa con microdilutor y se hicieron diluciones dobles desde 1:2 hasta 1:4,194,304, en seguida se adicionaron 0.025 ml. de la suspensión de eritrocitos, se agitó y reposó a 4°C durante un mínimo de 1 hora.

Lectura: Se recomienda leer después de 12 horas de realizada la prueba. El título de HA fue en la última dilución en la que la reacción de hemoaglutinación se presentó, teniendo en esta 1 unidad hemoaglutinante (UHA) y recorriendo dos diluciones hacia atrás se tuvieron 4 UHA (Hsiung 1973).

Figura 1. Hemoaglutinación.



Inhibición de la Hemoaglutinación:(IHA): (Joo y cols. 1976b).--
Vannier y cols. 1977; Duret 1979).

Principio: El suero positivo a parvovirus porcino es capaz de inhibir la reacción de hemoaglutinación. El suero positivo en contacto con el virus y posteriormente con los eritrocitos dan la reacción de IHA.

Material: Solución BABS.

Muestra de virus sospechoso.

Suero positivo a PPV (control), el cual se obtuvo de cerdas que padecieron la enfermedad, posee un título de 1:320.

Eritrocitos de cobayo al 0.5%.

Virus control.

Preparación: Para el buffer y los eritrocitos es la misma preparación que en la prueba de HA.

Titulación: Se colocaron 0.025 ml, de BABS, 0.025 ml. de suero positivo y 0.025 ml. de la muestra de virus sospechoso en la dilución en que contenga 4 UHA, se agitó y se reposó durante 1 hora a temperatura ambiente, posteriormente se adicionó 0.025 ml. de eritrocitos al 0.5%, se mezcló y se dejó incubar a 4°C durante un mínimo de 1 hora.

Lectura: Se realizó después de 1 hora de incubación y se observó si existía o no IHA.

Tratamiento con éter y cloroformo: (Vannier y cols. 1977).

Principio: El éter y cloroformo son solventes lipídicos, al ponerlos en contacto con el virus sospechoso, éstos compuestos actuarán sobre la envoltura viral que es de naturaleza lipídica.

Tratamiento: 1 ml. de muestra sospechosa se puso en contacto con 1 ml. de éter; 1 ml. de muestra sospechosa se puso en contacto con 1 ml. de cloroformo; 1 ml. de muestra sospechosa como control. Se mezcló cada tubo perfectamente y se dejó a 4°C durante 7 horas, agitando cada hora a continuación se tituló cada tubo por HA.

Microscopía electrónica. Se colocó una gota de suero contra PPV y una gota de la muestra sospechosa de virus, se reposó durante 12 horas a 4°C, posteriormente se tiñó con ácido fosfotúngstico

y se realizó la inmunoelectromicroscopía, se observó la muestra.

3.2. Estudio serológico de cerdas en granjas.

Se tomaron muestras de sangre de cerdas reproductoras en dos granjas del Estado de México; en la primera granja en el Municipio de Texcoco, sólo se permitió trabajar 35 cerdas de un total de 2,000 y en la segunda granja en el Municipio de Cuautitlán de R.R. fueron 100 cerdas de un total de 400. Las cerdas estaban en diferentes estados reproductivos y diversas edades.

Recolección de sangre: Se tomaron entre 3 y 5 ml. de sangre en la oreja con aguja del número 21 y 22, se vació en tubos y se tomó también en papel filtro.

Separación del suero: Se centrifugaron las muestras en tubo 30 minutos a 3,000 rpm., se separó el suero y se congeló a menos 70°C.

Debido a los problemas de stress que significa para el animal tomar sangre completa, se buscó un método más sencillo en el cual la cerda no tenga problemas de manejo, sea rápido y no sufra estados de tensión.

Este método consistente en tomar sangre en papel filtro, - fué utilizado con anterioridad en un estudio de Toxoplasmosis con óptimos resultados, (Galíndez 1982), es también recomendable en enfermedades como New Castle, distemper canino, encefalitis japonesa, micoplasmosis y actualmente viendo las grandes ventajas que presenta se puso en práctica para el estudio serológico de parvovirus porcino.

Características del papel filtro: (Figura 2). El papel filtro presenta dos áreas; área de absorción: Lugar en que se absorbe la sangre al ser tomada. Área de difusión: en ésta parte queda el exceso de sangre. El papel tiene como medidas 1.5 X 5 cm. con capacidad de 0.25 ml. de sangre.

Toma de la muestra: con una lanceta se punciona la vena marginal de la oreja, con previo lavado de la zona y se impregna el papel con la sangre obtenida; el papel se deja secar, procurando que no tenga contacto con ningún objeto, a la sombra, evitando los rayos del sol y formaldehído, ya que inhiben la extracción de anticuerpos. Una vez que están perfectamente secas las tiras de papel es recomendable guardarlas en una bolsa o caja en congelación a menos 70°C.

Desarrollo de la técnica. Se separó la zona de absorción de la - de difusión , el área de absorción se cortó en pedazos pequeños y se colocaron en la placa de titulación número 436, se rehidrataron con 0.75 ml. de PBS pH 7.2 y se dejaron en contacto una hora a temperatura ambiente o bien tres horas a 4°C, al término de éste tiempo los anticuerpos se han difundido. Se consideró suero diluido 1:4 (Galíndez 1982).

Prueba de inhibición de la hemaglutinación. La finalidad es conocer los niveles de anticuerpos en los diferentes sueros. La manera de realizarla y el material es el mismo que cuando se hace la IIIA para identificación del virus.

Es necesario tratar el suero porcino, tanto el de sangre completa como el de papel, debido a que posee muchos inhibidores inespecíficos de naturaleza glicoproteica y mucoproteica, los cuales son adsorbidos con kaolín, contiene también aglutininas naturales inespecíficas que son adsorbidas con eritrocitos. (Clarke y Casals 1958).

Tratamiento de suero. (Vannier y cols. 1977; Duret 1979).

Inactivación por calor 30 minutos a 56°C.

0.1 ml. de suero

0.9 ml. de buffer de boratos

1.0 ml. de kaolín al 25% en buffer de boratos.

agitación

se deja durante 30 minutos a 22°C con agitación frecuente.

centrifugación 10 minutos a 3,000 rpm.

0.9 ml. del líquido sobrenadante

0.1 ml. de suspensión de eritrocitos al 50%

agitación

contacto 30 minutos a 22°C

centrifugación 10 minutos a 1,000 rpm.

Se recupera el líquido sobrenadante que es suero que se considera en dilución 1:10 en el caso de sangre completa y 1:40 en el caso de papel.

El suero tratado puede ser congelado a menos 30°C hasta su utilización siendo recomendable realizar la prueba de IHA inmediatamente.

Titulación de la IHA: Se hicieron diluciones del suero con las cantidades ya descritas a partir de 1:20 a 1:10,240 para el suero de sangre completa y de 1:80 a 1:40,960 para el suero obtenido de papel.

La lectura se realizó 1 hora más tarde y se consideró el título de IHA en la última dilución donde la inhibición se presentó. (Figura3). Considerándose negativos títulos menores a 1:320 y siendo positivos aquellos a partir de 1:320 en que se considera que la cerda estuvo en contacto con la enfermedad. (Vannier y cols. 1979).

Figura 2. Características del papel filtro.

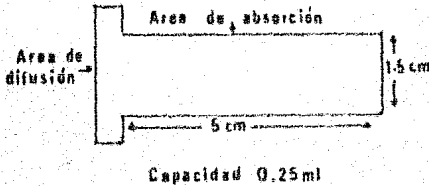
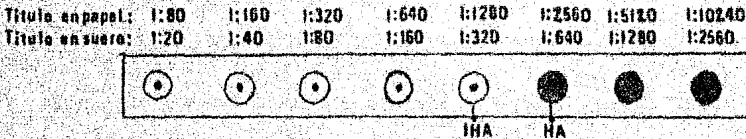


Figura 3. Inhibición de la Hemaglutinación.



SOLUCIONES UTILIZADAS

Buffer de fosfatos (PBS) pH 7.2

Cloruro de sodio..... 8.0 gr.
Cloruro de potasio..... 0.2 gr.
Fosfato de sodio dibásico..... 1.15 gr.
Fosfato de potasio monobásico..... 0.2 gr.
Aforar a 1 lt. de agua bidesionizada.

Solución salina amortiguada con fosfatos completa de Dulbecco. (PBS Completo de Dulbecco).

Solución A:

Cloruro de potasio..... 0.2 gr.
Cloruro de sodio..... 8.0 gr.
Fosfato de potasio monobásico..... 0.2 gr.
Fosfato de sodio dibásico..... 2.89 gr.
Aforar a 800 ml. de agua destilada.

Solución B:

Cloruro de calcio..... 0.1 gr.
Aforar a 100 ml. de agua destilada.

Solución C:

Cloruro de magnesio..... 0.1 gr.
Aforar a 100 ml. de agua destilada.

Se mezclan las soluciones A,B y C.

Solución de Alsever's; pH 6-6.2

Dextrosa..... 20.85 gr.
Citrate sódico..... 8.0 gr.
Acido cítrico..... 0.55 gr.
Cloruro de sodio..... 4.20 gr.
Aforar a 1 lt. de agua desionizada.

Buffer de Boratos. pH 9

Borato de sodio..... 1.0 gr.
Aforar a 100 ml. de agua destilada.

4. RESULTADOS

Identificación de Parvovirus porcino a partir de fetos momificados: De los 26 fetos recolectados, sólo 1 de rastro fué positivo a HA, obteniéndose títulos de 1:32,768 en hígado y 1:4,096 en pulmón, ambos inhibieron la HA y conservaron sus títulos de HA al ser sometidos a la prueba con éter y cloroformo. Al realizar la inmunoelectromicroscopía tanto en la muestra de hígado como en la de pulmón, se encontró al virus en gran cantidad debido a la adición de suero, se observaron las partículas virales aglutinadas lograndose una mejor apreciación de la estructura icosaédrica. (Figuras 4,5,6 y 7).

Estudio serológico de cerdas en granjas: En la primera granja en la que se muestrearon 35 cerdas de un total de 2,000, los títulos de IHA variaron desde 0 hasta 1:10,240 (Cuadro 7 y gráfica 1). Solamente se reportan los títulos en suero ya que las muestras en papel de dichas cerdas fueron utilizadas para estandarizar la técnica.

Los títulos menores a 1:320 son negativos y a partir de 1:320 son positivos: en éste caso se tuvieron 5 cerdas negativas y 30 positivas a PPV, siendo un total de 14.28% negativas y 85.71 % positivas.

Cuadro 7. Resultado de la prueba de IHA en 35 cerdas.

Título	No. de cerdas	Resultado
0	5	Negativo
320	12	Positivo
640	6	Positivo
1280	8	Positivo
2560	2	Positivo
5120	1	Positivo
10240	1	Positivo

Tinción negativa de partículas virales, tomadas de muestras de hígado de fetos momificados. (Figuras, 4, 5, 6,7). En todos los casos la barra representa 100 nm.



Figura 4. 97,294 X

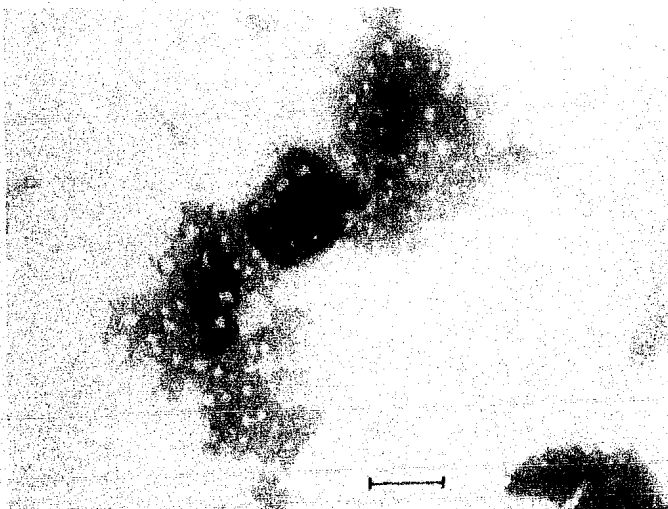


Figura 5. 116,752 X

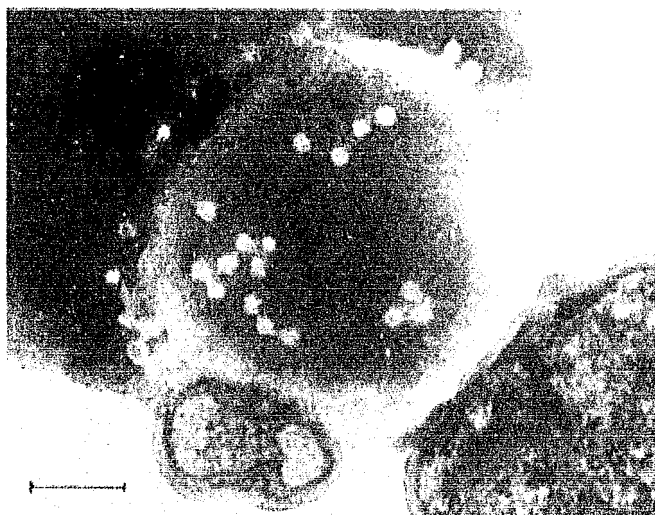


Figura 6. 229,000 X Tamaño de la partícula viral 19,65 nm.

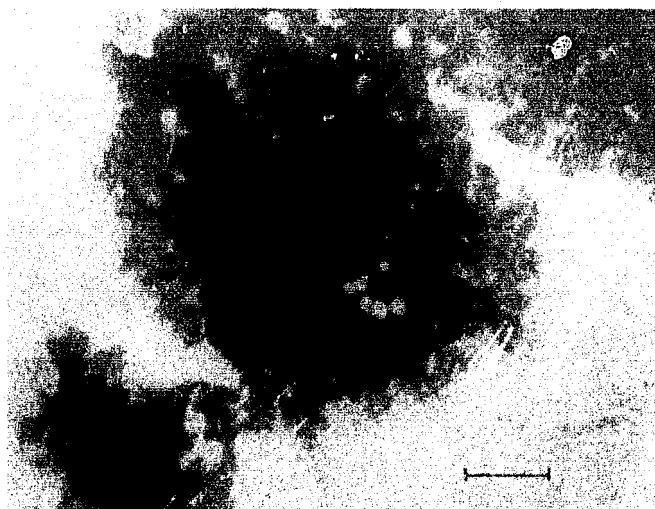


Figura 7. 138,000 X

(Fotografías procesadas por Rodolfo Robles Gómez).

En la segunda granja se muestrearon 100 cerdas de un total de 400, obteniéndose títulos de IHA tanto en suero como en papel que van de 0 hasta 1:1,280, teniendo en total 42% de cerdas positivas y 58% de cerdas negativas. (Cuadro 8 y gráfica 2).

Cuadro 8. Resultado de la prueba de IHA en 100 cerdas, con papel y suero.

Título	No. de animales		Resultado
	en suero	en papel	
0	6	5	Negativo
20	4	0	Negativo
40	6	1	Negativo
80	19	21	Negativo
160	23	33	Negativo
320	20	29	Positivo
640	17	11	Positivo
1280	5	2	Positivo

En la segunda granja también se realizó un Análisis de regresión y correlación lineal para determinar si ambos métodos (suero y papel) daban el mismo título de anticuerpos, los resultados fueron los siguientes. (Gráfica 3).

Coefficiente de correlación: $r=0.86$

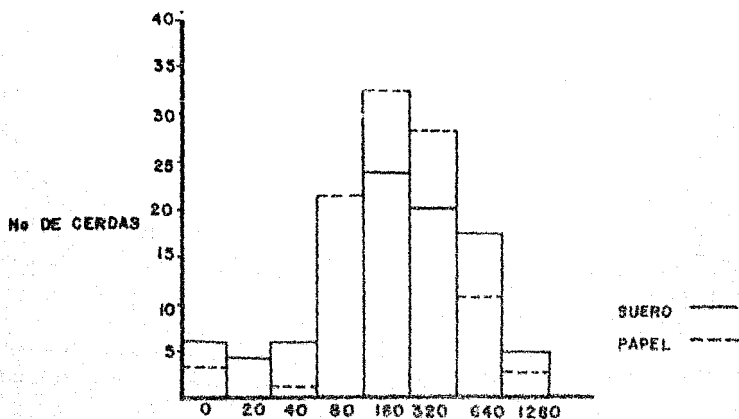
$r^2= 0.72$

Intercepto de la recta: $b= 74.53$

$t= 16.85$

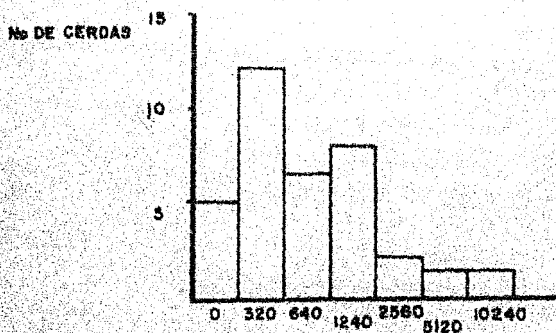
Ecuación de la recta: $y= 0.63 X + 74.53$

GRAFICA 2 TITULO DE ANTICUERPOS CONTRA PARVOVIRUS PORCINO EN SUERO Y PAPEL. EN 100 CERDAS DEL MUNICIPIO DE .CUAUTITLAM R. DE R. ESTADO DE MEXICO.



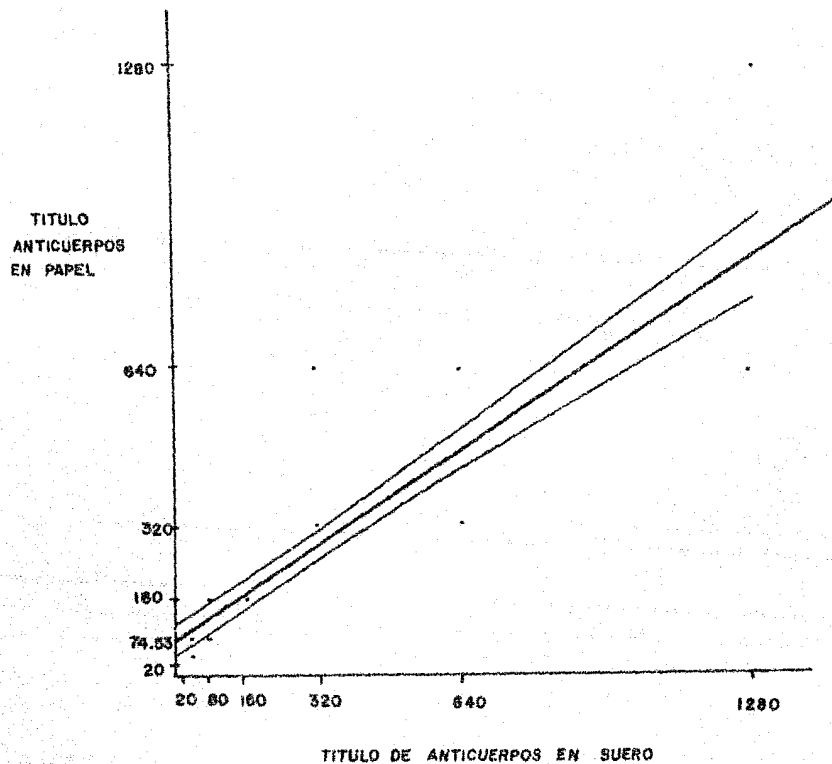
TITULO DE ANTICUERPOS EN SUERO Y PAPEL

GRAFICA 1 TITULO DE ANTICUERPOS CONTRA PARVOVIRUS PORCINO EN SUERO EN 36 CERDAS DEL MUNICIPIO DE TEXCOCO EDO. DE MEX.



TITULO DE ANTICUERPOS EN SUERO

GRAFICA 3. RECTA DE REGRESION



5. DISCUSION

Debido a la gran cantidad de problemas que causa parvovirus porcino en diversos países y habiéndose identificado en México (Ciprián y cols. 1982), es interesante conocer los problemas reales de la enfermedad en nuestro medio, los estudios que se realizaron anteriormente fueron a nivel de rastro, por lo tanto es necesario conocer el problema en granjas, por lo cual dentro de los objetivos se encuentra un estudio serológico para conocer el perfil inmunológico de las cerdas del Estado de México, sin embargo éste no fué tan extenso como se deseaba, ya que es trabajo de una sola persona y en éstas condiciones hubiera sido exhaustivo y requerido mucho tiempo, sin embargo se cubrieron todos los puntos propuestos en los objetivos.

Se encontró sólo un feto positivo a HA con título de 1:32,768 en hígado y 1:4,096 en pulmón. Mayr y cols. (1968), citan títulos significativos de infección 1:1,024, Joo y cols. (1975) demuestran títulos de 1:65,536. Los títulos obtenidos se localizan dentro de éste rango, además se sabe que los títulos varían entre los diferentes fetos debido a la tolerancia individual al virus y existen variaciones en los diversos países. Los títulos encontrados en México (Ciprián y cols. 1982), fueron de 1:32,768 y 1:65,536 en hígado, lo que concuerda con los resultados obtenidos en éste trabajo.

Con respecto a la prueba de hemaglutinación, se utilizó como diluyente PBS más fracción V de albúmina bovina debido a que la albúmina reduce las fuerzas dieléctricas entre células, con ampliación de la sensibilidad de la reacción de hemaglutinación y modifica la viscosidad de los eritrocitos. (Rose y Herman 1980). La lectura de la prueba se recomienda realizarla 12 horas después de haberla hecho, sin embargo se observó que en éste lapso de tiempo se secaban los componentes y la reacción no era medible, por lo tanto se calcularon diferentes intervalos de tiempo encontrándose que a 1 hora de realizada la prueba, la reacción era claramente legible y no existía riesgo de que variara. Se encon-

-tró también que los eritrocitos de cobayo dan mejores resultados que los de humano tipo 0 positivo, obteniéndose títulos más altos y claros con los primeros.

Las muestras de hígado y pulmón fueron positivas a IHA, en la cual no era necesario hacer diluciones del suero ya que sólo se deseaba saber si existía o no inhibición de la hemaglutinación. Ambas muestra fueron resistentes al tratamiento con éter y cloroformo, con lo que se demostraba la existencia de un virus desnudo, ya que al someterlas a la prueba de HA su título no varió, si hubiera sido un virus envuelto ambos solventes habrían afectado la envoltura lipídica y por lo tanto perdido su poder hemoaglutinante.

Las pruebas realizadas eran suficientes para establecer que se estaba trabajando con PPV. La identificación total del virus se realizó por medio de la inmunoelectromicroscopía utilizando un suero de referencia y la tinción con ácido fosfotúngstico, encontrándose el virus en gran cantidad en ambas muestras, el cual se logró apreciar como se muestra en la fotografías donde se distingue su estructura icosaédrica.

Aunque se trabajaron un total de 23 fetos en tres granjas con problemas reproductivos y en ninguno se identificó el virus esto no quiere decir que no tuvieran PPV, ya que el virus en muchas ocasiones esta enmascarado por otros problemas bacterianos y virales, en las tres granjas donde se recolectaron los fetos existían serios problemas por enfermedades tales como: enfermedad de Aujeszky, enterovirus y enfermedades bacterianas. Sin embargo uno de los fetos recolectado en rastro fue positivo a HA, del cual se logró identificar el PPV. Estudios realizados por Mengeling (1978), muestran que el aislamiento de PPV es más simple en fetos momificados obtenidos en rastro, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en este trabajo.

La IHA es la prueba de rutina para conocer niveles de anticuerpos contra PPV, debido a su gran sensibilidad y facilidad en su elaboración (Joo y cols. 1976b). El estudio serológico se llevó a cabo en dos granjas del Estado de México (Municipios de Texcoco y Cuautitlán de R.R.). En la primera granja se muestrea

-ron 35 cerdas de un total de 2,000 en diferentes estados reproductivos y diversas edades, obteniéndose títulos de IHA que variaron de 0 hasta 1:10,240; considerando que a partir de 1:320 es positivo, se obtuvieron 14.2% de animales negativos y 85.8% positivos a PPV. Estos niveles de anticuerpos se deben a la infección por PPV, no son vacunales, ya que en ésta granja no se realiza la vacunación contra PPV. Vannier y cols. (1977), citan que cuando existe infección por PPV en una granja, los títulos de IHA se encuentran entre 1:1,280 y 1:10,240; Se acepta que animales mayores de 12 meses de edad en zonas infectadas de manera endémica muestran títulos de anticuerpos mayores a 1:1,024 (Ursache y Vallet 1984). Por lo tanto se podría decir que la granja está infectada de manera endémica por PPV, aunque sería necesario probar un mayor número de sueros. Es importante señalar que el nivel inmune de los animales es adecuado (85.8%) y sólo estarían en peligro de reinfección algunas cerdas (14.2%) sobre las cuales habría que ejercer cierto control. Conociendo un poco el manejo de la granja y considerando el número tan elevado de vientres que manejan, cabe señalar que a pesar que los animales se encuentran en buenas condiciones de manejo, existen otros problemas de reproductivos (enfermedad de Aujeszky y enterovirus), por lo que sería conveniente estudiar a fondo éstas entidades y poder dilucidar el problema real causante de falla en la reproducción.

En la segunda granja (Municipio de Cuautitlán de R.R.) se muestrearon 100 cerdas de un total de 400, los títulos de anticuerpos oscilaron entre 0 y 1:1,280 siendo un total de 42% de cerdas positivas y 58% de cerdas negativas a PPV, con dichos resultados se deduce que el problema por PPV existe en la granja sin embargo por el alto número de cerdas negativas el peligro de infección es inminente, por lo tanto es en extremo necesario ejercer medidas de control drásticas y a la brevedad posible y que se inmunicen a las cerdas antes del siguiente empadre, para poder reducir los problemas de falla en la reproducción. Se encontraron títulos de anticuerpos en cerdas de diferentes edades y estados reproductivos, en 15 cerdas primerizas se detectaron 8 con títulos de 1:320, 1:640 y 1:1,280 y 7 negativas a PPV, debi

-do a que éstas cerdas son traídas de otra granja y a que están pocos días en contacto con los demás cerdos antes de ser cargadas, tales resultados conducen a pensar que las cerdas ya estuvieron en contacto con la enfermedad en su granja de origen, -- por lo que están inmunizadas y no sería difícil suponer que el motivo de infección de ésta segunda granja son las mismas cerdas de reemplazo que llegan infectadas. La granja en general se encuentra en malas condiciones, existen gran cantidad de enfermedades digestivas, respiratorias y reproductivas, (Enfermedad de Aujeszky, brucelosis, leptospirosis), es necesario ejercer un mejor manejo y control para todos los problemas.

En ambas granjas la presencia de anticuerpos contra PPV confirma que la enfermedad está presente, los niveles de anticuerpos en madres son adecuados y les confiere una buena inmunidad sin embargo no se puede incriminar a PPV sólo por la presencia de anticuerpos contra él, Ursache y Vallet (1984), en un estudio serológico realizado en Francia, muestran que parvovirus -- porcino se puede encontrar aunado a otros virus, citan que: de un total de 1,224 granjas probadas se encontró que 133 estaban asociadas a problemas de enterovirus, 81 a cólera porcino y 61 a enfermedad de Aujeszky. Por lo tanto sería interesante realizar pruebas que permitieran conocer el perfil de las otras entidades patológicas para poder definir cual o cuales son los agentes responsables de la falla en la reproducción, ya que en muchos casos los enterovirus y el virus de la enfermedad de Aujeszky enmascaran a Parvovirus Porcino.

Debido a los problemas de stress que significa tomar sangre completa a los animales se pensó en un método más fácil y rápido con el cual el animal no sufra estados de tensión, tomando una pequeña cantidad de sangre en papel filtro se evitan de manera importante las situaciones de stress. Este método ha sido utilizado con éxito en diversas enfermedades, en México se realizó con Toxoplasmosis (Gálvez 1982), obteniendo buenos resultados, por lo tanto pensando que sería de utilidad fue aplicado para conocer niveles de anticuerpos contra PPV.

Se decidió tomar sangre completa en tubo y en papel filtro

con lo cual se obtenían dos muestras de una misma cerda, los sueros se titularon por IHA y se compararon ambos métodos de muestreo.

El papel filtro una vez seco se rehidrató con un volumen conocido de PBS considerando éste líquido suero en dilución 1:4 y se estandarizó la técnica, ya que en un primer momento no se sabía como tratar adecuadamente el papel se trabajó de maneras diferentes; con inactivación por calor y sin ella, con adsorción con kaolín y eritrocitos y sin él, llegando finalmente a ver que los métodos más indicados eran: inactivación con calor 30 minutos a 56°C y adsorción con kaolín y eritrocitos, al igual que el suero obtenido de sangre completa. Es necesario tratar el papel ya que posee una gran cantidad de inhibidores inespecíficos, lo que provoca un título de IHA más elevado, que no corresponde al nivel real de anticuerpos. Sin embargo al comparar el suero y el papel tratados se observó a que a niveles más bajos de anticuerpos, la variación entre ambos métodos es menor que en títulos altos de IHA.

El estudio estadístico reveló que el método en papel y del suero tuvieron una relación lineal cuya gráfica e intervalos para los promedios con 95% de confianza están representados en la gráfica 3.

El valor de r indicó que existió un 74% de variación explicada por el experimento, lo cual fue buen indicio de la relación entre los dos métodos de muestreo y el diseño experimental efectuado. Por lo tanto se puede decir que el método de papel es confiable, pudiéndose estimar niveles de anticuerpos en suero a partir de muestras en papel utilizando la ecuación de la recta.

El método en papel funciona bien, en estudios en los que no se requiera total exactitud, en éste trabajo lo que interesaba saber era si existían cerdas negativas o positivas a PPV lo cual si se comprobó en todos los casos, es importante señalar que nunca se obtuvieron títulos positivos en suero y negativos en papel o visceversa en ninguna cerda, por lo cual para conocer animales seropositivos o seronegativos si funciona adecuadamente el papel filtro y se recomendaría éste método en estudios se

serológicos de parvovirus porcino.

Aunado a éstos resultados, la facilidad del método en papel y el manejo mínimo que se les da a los animales éste método es de elección para realizar pruebas de IHA, siendo necesario otros estudios para saber si funciona adecuadamente en otras pruebas serológicas.

Es necesario realizar estudios profundos a cerca del Parvovirus porcino, como son; aislamiento, montar técnicas de inmunofluorescencia, seroneutralización, para poder conocer el perfil de ésta enfermedad en México, así como la incidencia en granjas, hace falta mucho por hacer y los pocos trabajos existentes hasta el momento, no aportan mucho al conocimiento del virus en nuestro medio.

6. CONCLUSIONES

- Se logró la identificación del Parvovirus Porcino a partir de fetos momificados, mediante pruebas de hemoaglutinación con títulos de 1:32,768 en hígado y 1: 4,096 en pulmón: por pruebas de inhibición de la hemoaglutinación, resistencia a éter y cloroformo y microscopía electrónica.
- Se realizó el estudio serológico de dos granjas, en las cuales se encontraron diversos niveles de anticuerpos contra Parvovirus Porcino y se logró estimar el perfil epizootológico de ellas.
- Se demostró que la prueba de IHA puede realizarse a partir de muestras de sangre en papel filtro.
- Comparando los resultados de IHA en suero y papel la correlación entre ellos es adecuada, siendo el método en papel filtro, de elección para realizar estudios serológicos.

7. BIBLIOGRAFIA

- Andrews, C.H. (1970); Citado por Joo, H.S. and Johnson, R.H. - (1976 d) Porcine Parvovirus: A review. Vet. Bull. 46, 653-660.
- Arias, M.M.L.; Ciprián, C.C.; Galíndez, G.A.L. (1982). Incidence of toxoplasma antibodies in mexican pigs. Proc. Int. - Pig. Vet. Soc. Cong. México.
- Aynaud. (1974). Citado por Vannier, P.: Principales causas infecciosas de los trastornos de la gestación en la cerda. (1978). L'eleveur de porcs. 88 . Noticias Neosan 45-53.
- Bachmann, P.A. (1969), Citado por Joo, H.S. and Johnson, R.H. Porcine parvovirus: A Review (1976 d) Vet. Bull. 46 (9), - 653-660.
- Bachmann, P.A. (1972), Citado por Joo, H.S. and Johnson, R.H. - (1976d). Porcine Parvovirus: A review. Vet. Bull. 46 (9) - 653-660.
- Bachmann, P.A.; Sheffy, B.E.; Vaughan, J.T. (1975). Experimental in utero infection of fetal pigs with porcine parvovirus. Infect. Immunity. 12 (3) 455-460.
- Bearden, H.J.; Fuquay, J. (1982). Reproducción animal aplicada. 1ª edición, El Manual Moderno. 284-313.
- Binns, R.M. (1967). Citado por Sørensen, K.J. and Askaa, J. (1981). Fetal infection with porcine parvovirus in herds with reproductive failure. Acta. Vet. Scand. 22 (2) 162-170.
- Bonte, P; Biront, P.; Pensaert, M.; Vendeplasseche, M. (1984). Parvovirus infection in boars; Possibilities of genital localization after oronasal inoculation and influence on fertility. Proc. Int. Pig. Vet. Soc. Cong. Gante, Belgique.
- Bourne, F.J.; Curtis, J.; Johnson, R.H.; Collings, D.F. (1974). Citado por Sørensen, K.J. and Askaa, J. (1981). Fetal infection with porcine parvovirus in herds with reproductive failure. Acta. Vet. Scand. 22. (2) 162-170.
- Brown, T.T. (1981). Laboratory evaluation of selected disinfectants as virucidal agents against porcine parvovirus, pseudorabies virus and transmissible gastroenteritis virus. Am. J. Vet. Res. 42 (6) 1033-1036.
- Burns, K.F. (1950), Citado por Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1976d). Porcine parvovirus: A review. Vet. Bull. 46 (9) 653-660.

- Cartwright, S.F. and Huck, R.A. (1967). Citados por Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1976d) Porcine parvovirus: A review. *Vet. Bull.* 46 (9) 653-660.
- Cartwright, S.F.; Lucas, M. and Huck, R.A. (1969). A small haemagglutinating porcine DNA virus. I. Isolation and Properties. *J. Comp. Path.* 79 371-377.
- Cartwright, S.F.; Lucas, M. and Huck, R.A. (1971). Citados por Lucas, M.; Cartwright, S.F. and Wrathall, A.E. (1974). Genital infection of pigs with porcine parvovirus. *J. Comp. Path.* 84 (3) 347-350.
- Ciprián, C.A.; Badiola, S.I.; Pujols, R.J. y Flores, R.C. (1983). Identificación de parvovirus porcino. Memorias del congreso Nal. AMVEC. Puerto Vallarta, México.
- Ciprián, C.A.; Flores, C.R.; Hernández, B.E. (1982). Estudio sobre parvovirus porcinos. Memorias de la 17 reunión de alumnos de maestría y doctorado en Biomedicina. Programa Universitario de investigación clínica. Fac. Med. e Inst. de Invest. Biomédicas.
- Ciprián, C.A.; Flores, C.; Hernández, B.E. (1982). Detección de parvovirus porcino en fetos momificados colectados en el rastro. Memorias de la reunión de investigación pecuaria en México. INIP-SARH, EMVYZ y FES-C. UNAM.
- Ciprián, C.A.; Hernández, B.E.; Pujols, R.J. y Badiola, S.I. (1983). Parvovirus porcino. Microscopía Electrónica de transmisión y de barrido. Memorias del congreso Nal. AMVEC. Puerto Vallarta, México.
- Clarke, D.H. and Casals, J. (1958). Techniques for hemagglutination and hemagglutination inhibition with arthropod-borne viruses. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 7 561-573.
- Coackley, W. and Smith, V.W. (1972). Citado por Joo, H.S. and Johnson, R.H. Porcine parvovirus: A review. *Vet. Bull.* 46 (9) 653-660. (1976d).
- Croghan, D.L.; Matchett, A.; Koski, T.A. (1973). Citado por Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1976d) Porcine parvovirus: A review. *Vet. Bull.* 46 (9) 653-660.
- Cropper, M. and Starkey, A.L. (1976). Prevalence of antibodies to porcine enteroviruses and porcine parvovirus in body fluids of fetal pigs from small v.s. large litters. *JAVMA* 168 233-235.
- Cumming, H. (1975). *Virología cultivo de tejidos. El Manual Moderno, México.*

- Cutler, R.; Molitor, T.W. and Sauber, T.E. (1982). Role of the rat in the transmission of porcine parvovirus. *Am. J. Vet. Res.* 43 (5) 493-496.
- Cutler, R.S.; Molitor, T.W.; Sauber, T.E. and Leman, A.D. (1980) Quantitation of losses due to porcine parvovirus and the evaluation of a formalin inactivated vaccine. *Proc. Int. Pig. Vet. Soc. Cong.* Copenhagen, Denmark.
- Cutlip, R.C. and Mengeling, W.L. (1975). Experimentally induced infection of neonatal swine with porcine parvovirus. *Am. J. Vet. Res.* 36 (8) 1179-1182.
- Cutlip, R.C. and Mengeling, W.L. (1975). Pathogenesis of in utero infection of eight and ten week-old porcine fetuses with porcine parvovirus. *Am. J. Vet. Res.* 36 (12) 1751-1754.
- Dalsgaard, K.; Overby, E.; Metzger, J.J. and Basse, A. (1979). - Citados por Sørensen, K. J.; Askaa, J. and Dalsgaard, K. - (1980). Elevated immunoglobulin levels in the diagnosis of intrauterine parvovirus infections in pigs. *Acta Vet. Scand.* 21 (1) 152-154.
- Darbyshire, J.H. and Roberts, D.H. (1968). Citados por Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1976d) Porcine parvovirus: A review. *Vet. Bull.* 46 (9) 653-660.
- Donaldson-Wood, C.R.; Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1976). Citados por Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1976d) Porcine parvovirus: A review. (1976). *Vet. Bull.* 46 (9) 653-660.
- Donaldson-Wood, C.R.; Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1977). The effect on reproductive performance of porcine parvovirus infection in a susceptible pig herd. *Vet. Rec.* 100, march 237-239.
- Doyle and Hutchins (1946). Citados por Flores Menéndez y Agraz. (1981). *Ganado Porcino*, 3ª edición, LIMUSA.
- Dunne, H.W. and Clarke, C.D. (1968). Citado por Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1976d) Porcine parvovirus: A review. *Vet. Bull.* 46 (9) 653-660.
- Dunne, H.W.; Gobble, J.L.; Hokanson, J.F.; Kradel, D.C. and Bush. (1965). Citados por Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1976d). Porcine parvovirus: A review. *Vet. Bull.* 46 (9) 653-660.
- Dunne, H.W. and Leman, A.D. (1975). Citado por Gualandi y Marastoni. (1980). Cause di aborto, di sterilità e di mortalità perinatale nella specie suina con particolare riferimento agli SMEDI virus. *Clinica Vet.* 103 (4) 159-174.

- Duret. (1976). Methode de titrage des anticorps, parvovirus porcin, inhibition de l'hemagglutination. L'Institut Me--rieux, Technique 17307.
- Fennestad, K.L.; Borg-Petersen, C.; Brummerstedt, E. (1968). Citado por Sørensen, K.J. and Askaas, J. (1981). Fetal infection with porcine parvovirus in herds with reproductive -- failure. Acta Vet. Scand. 22 (2) 160-170.
- Flores, C.R. y Ciprián, C.A. (1980). Problemas de la eficiencia reproductora en cerdos infectados por brucelosis. Porcira--ma. Año 7. 7 (76) 23-30.
- Flores Menéndez, J.A. y Agraz, G.A.A. (1981). Ganado Porcino 3ª edición, LIMUSA, 605-621, 685-728. México.
- Forman, A.J.; Lenghaus, C.; Hogg, G.G.; Hale, C.J. (1977). Association of a parvovirus with an outbreak of foetal death and mummification in pigs. Aust. Vet. J. 53, july, 326-329.
- Fujisaki, Y.; Marinoto, T.; Sugimori, T.; Suzuki, H. (1975). Experimental infection of pigs with porcine parvovirus. Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart. Japan. 15 205-206.
- Fujisaki, Y.; Murakami, Y. (1982). Immunity to infection with porcine parvovirus in pigs inoculated with attenuated HT strain. Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart. Japan, 22 (1) 36-37.
- Fujisaki, Y.; Murakami, Y.; Suzuki, H. (1982). Establishment of an attenuated strain of porcine parvovirus by serial passage at low temperature. Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart. Japan 22 (1) 1-7.
- Gagnon, A.N.; Dulac, G.C. (1979). Porcine parvovirus infection in Ontario: Incidence and diagnosis in herds with reproductive failures. Can. Vet. J. 20 (11) 338.
- Galíndez, G. A.L. (1982). Toxoplasmosis en cerdos, incidencia México. Tesis de licenciatura, M.V.Z. FES-C, México.
- Gillick, J.C. (1977). An outbreak of swine foetal mummification associated with porcine parvovirus. Aust. Vet. J. 53 (2) 105-106.
- Gordon, W.A.M. and Luke, D. (1955). Citados por Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1976d). Porcine parvovirus: A review. Vet. Bull. 46 (9) 653-660.
- Gualandi, G.L. e Marastoni, G. (1980). Cause di aborto, di sterilità e di mortalità perinatale nella specie suina con particolare riferimento agli SMEDI virus. Clinica Vet. 103 (4) 159-174.

- Hafez, E.S.E. (1978). Reproducción de los animales de granja. 2ª edición. Herrero, México. 503-513, 563-567.
- Hallauer, C.; Kronauer, G.; Siegl, G. (1971). Citado por Joo, H. S. and Johnson, R.H. (1976). Porcine parvovirus; A review. *Vet. Bull.* 46 (9) 653-660.
- Hallauer, C.; Siegl, G.; Kronauer, G. (1972). Citados por Sharabadi, M.S.; Lynch, J.; Cho, H.S. and Marusyk, R.G. (1982). Studies on the multiplication of a porcine parvovirus. *Vet. Microbiology* 7 (2) 117-125.
- Hogg, H.H.; Lenghaus, C. and Forman, A.J. (1977). Experimental porcine parvovirus infection of foetal pigs resulting in abortion histological lesions and antibody formation. *J. Comp. Path.* 87 (3) 539-549.
- Horzinek, M.; Mussgay, M; Maess, J.; Petscheit, K. (1967). Citado por Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1976d). Porcine parvovirus: A review. *Vet. Bull.* 46 (9) 653-660.
- Hsiung, G.D. (1973). *Diagnostic Virology*.
- Huck, R.A.; Aston, F.W. (1964). Citados por Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1976d). Porcine parvovirus; A review. 46 (9) 653-660.
- Huygelen, C. and Peetermans, J. (1967). Citados por Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1976d). Porcine parvovirus: A review. *Vet. Bull.* 46 (9) 653-660.
- Johnson, R.H. (1971). Citado por Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1976d). Porcine parvovirus: A review. *Vet. Bull.* 46 (9) 653-660.
- Johnson, R.H. (1973). Isolation of swine parvovirus in Queensland, Aust. *Vet. J.* 40 march. 137-159.
- Johnson, R.H. and Collings, D.F. (1969). Citados por Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1976d). Porcine parvovirus: A review. *Vet. Bull.* 46 (9) 653-660.
- Johnson, R.H. and Collings, D.F. (1971). Citados por Vannier, P. Leunen, J. et Tillon, J.P. (1976). Role du parvovirus porcin dans les troubles de la reproduction chez le porc. *Rec. Méd. Vét.* 152 (9) 509-516.
- Johnson, R.H.; Donaldson-Wood, C. and Allender, V. (1976). Observations on the epidemiology of porcine parvovirus. *Aust. Vet. J.* 52 (2) 80-84.
- Jónson, A. (1973). Citado por Sørensen, K. J.; Askaa, J.; Dalsgaard, K. (1980). Elevated immunoglobulin levels in the diagnosis of intrauterine parvovirus infections in pigs. *Acta Vet. Scand.* 21 (1) 152-154.

- Joo, H.S.; Donaldson-Wood, C.R.; Johnson, R.H.; (1975). A micro neutralization test for the assay of porcine parvovirus antibody. Arch. Vir. 47 (4) 337-341.
- Joo, H.S.; Donaldson-Wood, C.R. and Johnson, R.H. (1976a). Rapid diagnostic techniques for detection of porcine parvovirus infection in mummified foetuses. Aust. Vet. J. 52 January 51.
- Joo, H.S.; Donaldson-Wood, C.R. and Johnson, R.H. (1976b). A standardised haemagglutination inhibition test for porcine parvovirus antibody. Aust. Vet. J. 52 September 422-424.
- Joo, H.S.; Donaldson-Wood, C.R.; And Johnson, R.H. (1976c). Citados por Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1976d). Porcine parvovirus: A review. Vet. Bull. 46 (9) 653-660.
- Joo, H.S.; Donaldson-Wood, C.R.; Johnson, R.H. and Campbell, R. S. F. (1977). Pathogenesis of porcine parvovirus infection pathology and immunofluorescence in the foetus. J. Comp. Path. 87 (3) 383-391.
- Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1976d) Porcine parvovirus: A review Vet. Bull. 46 (9) 653-660.
- Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1977). Observations on rapid diagnosis of porcine parvovirus in mummified foetuses. Aust. Vet. J. 53 (2) 106-107.
- Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1977). Serological responses in pigs vaccinated with porcine parvovirus. Aust. Vet. J. 53 November 550-552.
- Joo, H.S.; Johnson, R.H. and Watson, D.L. (1978). Serological procedures to determine time of infection of pigs with porcine parvovirus. Aust. Vet. J. 54 March 125-127.
- Joo, H.S.; Molitor, T.W. and Leman, A.D. (1984). Antibody responses of guinea-pigs, rabbits and pigs to inactivated porcine parvovirus vaccine. Vet. Microbiology 9 (1) 27-33.
- Kim, Y.B.; Bradley, G.; Watson, D.W. (1966). Citados por Joo, H.S.; Johnson, R.H. and Watson, D.L. (1978). Serological procedures to determine time of infection of pigs with porcine parvovirus. Aust. Vet. J. 54 March 125-127.
- Kluge, J.P. and Maré, C.J. (1974). Citados por Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1976d). Porcine parvovirus: A review. Vet. Bull. 46 (9) 653-660.
- Lei, J.C.; Overby, E.; Holm,; Jensen; Sørensen, F.O. (1980). Preparation of a porcine parvovirus vaccine. Proc. Int. Pig. Vet. Soc. Cong. Copenhagen, Denmark.

- Leman, A.D.; Glock, R.D.; Mengeling, W.L.; Penny, R.H.; Erwin, S.; Straw, B. (1981). Diseases of swine. Chapter 53, Porcine parvovirus infection, The Iowa State University Press Ames, Iowa, U.S.A.
- Lenghaus, C.; Forman, A.J. Hale, C.J. (1978). Experimental infection of 35, 50 and 60 day old pig foetuses with porcine parvovirus. Aust. Vet. J. 54 (9) 418-422.
- Lucas, M.H.; Cartwright, S.F. and Wrathall, A.F. (1974). Genital infection of pigs with porcine parvovirus. J. Comp. Path. 84 (3) 347-350.
- Marrable, A.W. and Ashdown, R.R. (1967). Citados por Joo, H.S.; Donaldson-Wood, C.R.; Johnson, R.H. and Campbell R.S.F. (1977). Pathogenesis of porcine parvovirus infection, pathology and immunofluorescence in the foetus, J. Comp. Path. 87 (3) 385-391.
- Mayr, A.; Bachmann, P.A.; Siegl, G.; Mahnel, H.; Sheffy, B.E. (1968). Citados por Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1976d). Porcine parvovirus: A review, Vet. Bull. 46 (9) 653-660.
- Mayr, A. and Mahnel, H. (1966). Citados, por Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1976d). Porcine parvovirus: A review, Vet. Bull. 46 (9) 653-660.
- Mengeling, W. L. (1972). Porcine parvovirus: Properties and prevalence of a strain isolated in the United States. Am. J. Vet. Res. 33 (11) 2239- 2248.
- Mengeling, W.L. (1975). Porcine parvovirus: Frequency of naturally occurring transplacental infection and viral contamination of fetal porcine kidney cell cultures. Am. J. Vet. Res. 36 (1) 41-44.
- Mengeling, W.L. (1978). Prevalence of a porcine parvovirus induced reproductive failure: An abattoir study. JAVMA 172 (11) 1291-1294.
- Mengeling, W.L. (1979) Prenatal infection following maternal exposure to porcine parvovirus on either the seventh or fourteenth day of gestation. Can. J. Comp. Med. 43 (1) 106-109.
- Mengeling, W.L.; Brown, T.T.; Paul, P.S.; Gutekunst, D.E. (1979) Efficacy of an inactivated virus vaccine for prevention of porcine parvovirus induced reproductive failure. Am. J. Vet. Res. 40 (2) 204-207.
- Mengeling, W.L.; Brown, T.T.; Paul, P.S.; Gutekunst, D. (1979). Porcine parvovirus vaccine tested. JAVMA 175 (2) 162.
- Mengeling, W.L. and Cutlip, R.C. (1975). Pathogenesis of in utero infection experimental infection of five week- old porcine fetuses with porcine parvovirus. Am. J. Vet. Res. 36 (8) 1173-1177.

- Mengeling, W.L.; and Cutlip, R.C. (1976). Reproductive disease experimentally induced by exposing pregnant gilts to porcine parvovirus. *Am. J. Vet. Res.* 37 (12) 1393-1400.
- Mengeling, W.L.; Cutlip, R.C.; Wilson, R.A.; Parks, J.B.; Marshall, R.F. (1975). Fetal mummification associated with porcine parvovirus infection. *JAVMA* 169 (10) 995-995.
- Mengeling, W.L.; Gutekunst, D.E. and Firtle, E.C. (1980). Antibody response of pigs to inactivated monovalent and bivalent vaccines for porcine parvovirus and pseudorabies virus. *Am. J. Vet. Res.* 41 (10) 1569-1571.
- Mengeling, W.L.; Gutekunst, D.E.; Firtle, E.C. and Paul, P.S. (1981). Immunogenicity of bivalent vaccine for reproductive failure of swine induced by pseudorabies virus and porcine parvovirus. *Am. J. Vet. Res.* 42 (4) 600-603.
- Mengeling, W.L. and Paul, P.S. (1981). Citado por Wrathall, A. E.; Wells, D.E.; Cartwright, S.F. and Frenchs, G.N. (1984). An inactivated oil-emulsion vaccine for prevention of porcine parvovirus induced reproductive failure. *Res. Vet. Sci.* 36 (2) 136-143.
- Mengeling, W.L.; Paul, P.S.; Brown, T.T. (1980). Transplacental infection and embryonic death following maternal exposure to porcine parvovirus near the time of conception. *Arch. Vir.* 65 (1) 55-62.
- Mengeling, W.L.; Paul, P.S.; Gutekunst, D.E.; Firtle, E.C. and Brown, T.T. (1980). Vaccination for reproductive failure caused by porcine parvovirus. *Proc. Int. Pig. Vet. Soc. Con. Copenhagen, Denmark.*
- Mengeling, W.L.; Whiteford, R. A.; Van Deusser, R.A.; Krauer, T. and Paul, P.S. (1984). Potential of monoclonal antibodies for systemic immunoprophylaxis in the pigs. *Proc. Int. Pig. Vet. Soc. Con. Gante, Belgique.*
- Mialot, J.P. (1981). Parvovirus et reproduction chez le porc. *Le point vétérinaire.* 12 (57) 71.
- Molitor, T.W. and Joo, H.S. (1982). Citado por Ciprián, C.A.; Flores, C.R. y Hernández, R.E. (1982). Estudio sobre parvovirus porcinos. *Memorias de la 1ª reunión de alumnos de maestría y doctorado en biomedicina. Programa universitario de investigación clínica. Fac. Med.e Inst. de Invest. biomédicas. México.*
- Molitor, T.W.; Joo, H.S.; and Thacker, B. (1984). Immunologic molecular and pathogenic properties of KBSH virus: An attenuated strain of porcine parvovirus. *Proc. Int. Pig. Vet. Soc. Con. Gante, Belgique.*

- Molitor, T.W.; Joo, H.S. and Thacker, B.J. (1984/85). Potentiating effect of adjuvants on humoral immunity to porcine parvovirus vaccines in guinea pigs. *Vet. Mic.* 10 209-218.
- Morimoto, T; Fugisaky, Y.; To, I.; Tanaka, Y. (1972). Citados por Shahrabadi, M.S.; Lynch, J.; Cho, J.; Marusyk, R.G. (1982). Studies on the multiplication of a porcine parvovirus. *Vet. Mic.* 7 (2) 117-125.
- Narita, M.; Inui, S.; Kawakami, Y.; Kitamura, K.; Maeda, A. (1975). Citados por Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1976d). Porcine parvovirus: A review. *Vet. Bull.* 46 (9) 653-660.
- Paul, P.S. and Mengeling, W.L. (1980). Evaluation of a modified live-virus vaccine for the prevention of porcine parvovirus induced reproductive disease in swine. *Am. J. Vet. Res.* 41 (12) 2007-2011.
- Paul, P.S. and Mengeling, W.L. (1984). Infection of swine with an attenuated strain MADL-2 of porcine parvovirus by oronasal or intramuscular route. *Proc. Int. Pig. Vet. Soc. Cong. Gante, Belgique.*
- Paul, P.S.; Mengeling, W.S.; Brown, T.F. (1981). Porcine parvovirus. *Am. J. Vet. Res.* 178 (5) 501.
- Pensaert, M.; de Meurichy, W. (1973). Citados por Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1976d). Porcine parvovirus: A review. *Vet. Bull.* 46 (9) 653-660.
- Pirtle, (1974). Citado por Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1976d). Porcine parvovirus: A review. *Vet. Bull.* 46 (9) 653-660.
- Prokesova, L.; Rejnek, J.; Sterzl, J.; Travnicek, J. (1969). Citados por Sørensen, K. J.; Askaa, J.; Dalsgaard, K. (1980). Elevated immunoglobulin levels in the diagnosis of intrauterine parvovirus infections in pigs. *Acta. Vet. Scan.* 21 (1) 152-154.
- Prokesova, L.; Rejnek, K. (1971). Citados por Sørensen, K.J.; Askaa, J.; Dalsgaard, K. (1980). Elevated immunoglobulin levels in the diagnosis of intrauterine parvovirus infection in pigs. *Acta. Vet. Scan.* 21 (1) 152-154.
- Prozesky, L.; Thomson, G.R.; Gainarm, M.D.; Herr, S.; Kritzing, L.J. (1980). Lesions resulting from inoculation of porcine foetuses with porcine parvovirus. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 47 (4) 269-274.
- Redman, D.R.; Bohl, E.H.; Ferguson, L.C. (1974). Porcine parvovirus: Natural and experimental infections of the porcine fetus and prevalence in mature swine. *Infection and Immunity.* 10 (4) 718-723.

- Rodeffer, ; Leman, A.D.; Dunne, H.W.; Cropper, M.; Sprecher, D.J. (1975). Reproductive failure in swine associated with maternal seroconversion for porcine parvovirus. *JAVMA*. 166 (10) 991-992.
- Rose, N.R.; Friedman, H.; (1980). Manual of clinical immunology 2nd edition. American Society for Microbiology, Washington, D.C. U.S.A.
- Ruckerbauer, G.M.; Dulac, G.C.; Boulanger, P. (1978). Demonstration of parvovirus in canadian swine and antigenic relations with isolates from the other countries. *Can. J. Comp. Med.* 42 (3) 278-285.
- Sasahara, J.; Hayashi, S.; Okaniwa, A.; Kato, K. (1955). Citado por Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1976d) Porcine parvovirus: A review. *Vet. Bull.* 46 (9) 653-660.
- Saxegaard, F.; Onstad, O. (1967). Citados por Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1976d) Porcine parvovirus: A review. *Vet. Bull.* 46 (9) 653-660.
- Shahrabadi, M.S.; Lynch, J.; Cho, H.J.; Marusyk, R.G. (1982). Studies on the multiplication of a porcine parvovirus. *Vet. Mic.* 7 (2) 117-125.
- Sørensen, K. J.; Askaa, J. (1980). Prevalence and prophylaxis of reproductive failure caused by porcine parvovirus in Denmark. *Proc. Int. Pig. Vet. Soc. Cong. Copenhagen, Denmark.*
- Sørensen, K.J.; Askaa, J. (1981). Fetal infection with porcine parvovirus in herds with reproductive failure. *Acta Vet. Scan.* 22 (2) 162-170.
- Sørensen, K.J.; Askaa, J. (1981). Vaccination against parvovirus infection. *Acta. Vet. Scan.* 22 (2) 171-179.
- Sørensen, K.J.; Askaa, J. (1980). Assay for antibody in pig -- fetuses infected with porcine parvovirus. *Acta. Vet. Scan.* 21 (3) 312-317.
- Sørensen, K.J.; Askaa, J.; Dalsgaard, K. (1980). Elevated immunoglobulin levels in the diagnosis of intrauterine parvovirus infection pigs. *Acta. Vet. Scan.* 21 (1) 152-154.
- Thacker, B.J.; Leman, A.D.; Hurtgen, J.P.; Sauber, T.E.; Joo, H.S. (1981). Survey of porcine parvovirus infection in swine fetuses and their dams at a Minnesota abattoir. *Am. J. Vet. Res.* 42 (5) 865-867.
- Thacker, B.; Leman, A.; Joo, H.S.; Winkelman, M. (1984). Porcine parvovirus infection in boars: Absence of seminal smudging and a changes in semen quality experimental infection. *Proc. Int. P-g. Vet. Soc. Cong. Gante, Belgique.*

- Thacker, B.J.; Sauber, T.E.; Leman, A.D. (1981). Comparison of antibody titres to porcine parvovirus in serum and ovarian follicular fluid. *Am. J. Vet. Res.* 42 (3) 532.
- Timbol, C.R. (1980). Studies on porcine parvovirus. *Phil. J. Vet. Med.* 19 (1) 81-91.
- Toolan, H. (1968). Citado por Mengeling, W.L. (1972). Prevalence of a strain isolated in the United States. *Am. J. Vet. Res.* 33 (11) 2239-2248.
- Ursache, R. et Vallet, C. (1984). L'infection a parvovirus chez le porc. (Note. 2. Sondage serologique en France 1977-1982) *Rev. Méd. Vét.* 135 (2) 63-72.
- Vannier, P. (1978). Principales causas infecciosas de los trastornos de gestación en la cerda. *L'éleveur de porcs*, 88 - fevrier. (Noticias Neosan. 45-53).
- Vannier, P.; Leunen, J. et Tillon, J.P. (1976). Role du parvovirus dans les troubles de la reproduction chez le porc. *Rec. Méd. Vét.* 152 (9) 509-516.
- Vannier, P.; Leunen, J. et Tillon, J.P. (1977). Le parvovirus et les troubles de la reproduction chez le porc, étude clinique et serologique, conséquences pratiques. Institut techniques du porc. 153-160.
- Vannier, P.; Renault. (1971-1975). Citados por Vannier, P. (1978) Principales causas infecciosas de los trastornos de gestación en la cerda. *L'éleveur de porcs*. 88 (Noticias Neosan 45-53).
- Vannier, P. et Tillon, J.P. (1979). Diagnostic de certitude de l'infection a parvovirus dans les troubles de la reproduction de l'espece porcine. *Rec. Méd. Vét.* 155 (2) 151-158.
- Walton, J.R.; Ward, W.R. and Gibbons, D.F. (1980). Serological réponse to porcine parvovirus in individually penned sows. *Proc. Int. Pig. Vet. Soc. Con. Copenhagen, Denmark.*
- Whitemore, H.L.; Archbald, C.F. (1977). Citados por Thacker, B. J.; Sauber, T.E.; Leman, A.D. (1981). Survey of porcine parvovirus in swine infection fetuses and their dams at a Minnesota abattoir. *Am. J. Vet. Res.* 42 (5) 865-867.
- Wrathall, A.E. (1975). Citados por Gualandi, G.L. e Marastoni G. (1980). Cause di aborto, di sterilità e di mortalità perinatale nella specie suina con particolare riferimento agli SMEDI virus. *Clinica Vet.* 103 (4) 159-174.
- Wrathall, A.E. (1984). Porcine parvovirus vaccine introduced. *Vet. Rec.* 114-(5) 108.

- Wrathall, A.E. (1979). Effect of inseminating seropositive gilts with semen containing porcine parvovirus. *Brit. Vet. J.* 135 (5) 420-425.
- Wrathall, A.E.; Mengeling, W.L. (1979). Effect of porcine parvovirus on development of fertilized pig eggs in vitro. *Brit. Vet. J.* 135 (5) 249-254.
- Wrathall, A.E. and Mengeling, W.L. (1979). Effect of transferring parvovirus infected fertilized pig eggs into seronegative gilts. *Brit. Vet. J.* 135 (3) 255-261.
- Wrathall, A.E.; Wells, D.E.; Cartwright, S.F. and Frerichs, G. N. (1984). An inactivated oil- emulsion vaccine for prevention of porcine par-ovirus induced reproductive failure. *Res. Vet. Sci.* 36 (2) 136-143.
- Young, G.A.; Kitchell, R.L.; Vedke, A.J.; Sautter, J.H. (1955). Citados por Joo, H.S. and Johnson, R.H. (1976 d). Porcine parvovirus; A review. *Vet. Bull.* 46 (3) 653-660.
- Zachariae, F. (1958). Citado por Thacker, B.J.; Sauber, T.E.; Leman, A.D. (1981). Comparison of antibody titers to porcine parvovirus in serum and ovarian follicular fluid. *Am. J. Vet. Res.* 42 (3) 532.
- Zupanic, Z. (1977). Citado por Ursache et Vallet, C. (1984). L'infection a parvovirus chez le porc. (Note 2. sondage serologique en France 1977-1982). *Rev. Méd. Vét.* 135 (2) 63-72.