

Nº/6
2EJ



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

INOCULACION EXPERIMENTAL DEL
PAROMIXOVIRUS DE OJO AZUL EN EL
GATO DOMESTICO (Felis catus).

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
ARELLANES ARELLANES EDITH CAMELIA

Asesores: MVZ Martha Fuentes Rangel
MVZ Rosalba Carreón Nápoles
MVZ Humberto Ramírez Mendoza

MEXICO, D. F.

1992

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

INDICE

Resumen.....	7
Introducción.....	8
Hipótesis.....	13
Material y métodos.....	14
Resultados.....	21
Discusión.....	28
Conclusiones.....	30
Literatura citada.....	31

RESUMEN

ARELLANES ARELLANES EDITH CAMELIA. Inoculación experimental del paramixovirus de ojo azul en el gato doméstico (*Felis catus*). Bajo la asesoría de los MVZ Martha Fuentes Rangel, MVZ Rosalba Carreón Nápoles y MVZ Humberto Ramírez Mendoza.

Quince gatos adultos fueron inoculados con 4 ml de paramixovirus de ojo azul (POA) con un título de 10^4 DIC₅₀ / ml por vía intranasal aplicado con bomba de aspersión. A los 0, 14 y 21 días postinoculación se obtuvieron muestras séricas para detección de anticuerpos contra POA por la pruebas de inhibición de la hemaglutinación método beta (IHA) y seroneutralización método beta (SN). Para el aislamiento viral se tomó hisopo nasal y ocular a los 4 días y biopsia de tonsila a los 7 días. Los animales se sacrificaron a los 21 días postinoculación, se tomaron muestras de encéfalo, pulmón y tonsila para la prueba de inmunofluorescencia (IF) directa y para estudio histopatológico (HP). Todas las muestras de biopsia de tonsila e hisopo nasal y ocular fueron negativas en cultivo celular (CC) en los tres pases ciegos. En la prueba de IHA se obtuvieron los siguientes resultados, el primer muestreo fue negativo, el segundo y tercero detectaron títulos entre 1:6 y 1:192. En la SN el primer muestreo fue negativo y en el segundo y tercero se detectaron títulos entre 1:4 y 1:64. La IF directa de órganos fue negativa para pulmón, tonsils y encéfalo. En el estudio HP no hubo cambios significativos. De los resultados obtenidos se concluye que el gato tiene la capacidad de seroconvertir a POA sin ser necesariamente un portador.

¹ Dosis infectantes en cultivo celular.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de ojo azul, antes síndrome de ojo azul (2,8,22), es una afección viral que en forma natural solo afecta los porcinos (20,24). El agente etiológico pertenece a la familia Paramixoviridae, conocido en la actualidad como Paramixovirus del Ojo Azul (POA) (28). En 1980 se obtuvo el primer reporte de esta enfermedad en una granja comercial de La Piedad, Michoacán. Se caracteriza por encefalitis, falla reproductiva y opacidad de la córnea (19,20,25,28). El término ojo azul, tal vez no sea el más adecuado, ya que la opacidad de la córnea es una lesión de presentación variable, mientras que el daño al encéfalo es más constante (27).

Tanto los signos como las lesiones, en un principio fueron la causa de que se pensara en enfermedades de origen viral que afectan al sistema nervioso central (Encefalitis japonesa, enfermedad de Aujeszky, fiebre porcina clásica y rabia) (20,28). Otro diagnóstico fue la deficiencia de vitamina B2 o la presencia de pesticidas en el alimento (25). Posteriormente se aisló el virus a partir de tonsila, pulmón y encéfalo de animales enfermos, en monoestratos de células de riñón de cerdo (PK 15), se observó que el virus tiene propiedades hemaglutinantes, con efecto citopático, formación

INTRODUCCION

de sincitios entre las 24 y 48 horas postinoculación, desprendimiento de células redondas y formación de vacuolas en el citoplasma. Crece en una gran variedad de líneas celulares (14,19,28). Es un virus ARN envuelto, del género paramixovirus, sensible al éter y cloroformo y resistente a la actinomicina D (19,28). Cruz y col. demuestran que el paramixovirus porcino La Piedad, Mich. (Pp-LPM) conserva propiedades hemoaglutinantes (HA) e infectivas en cultivo celular (CC) por un período igual o mayor a 110 días de tratamiento a 37 °C. A 56 °C conserva propiedades HA por lo menos hasta 30 minutos y propiedades infectivas en CC por 15 minutos o mas. A los 87 °C conserva propiedades HA durante un minuto y propiedades infectivas por los menos durante un minuto (4). No tiene relación con otros paramixovirus causantes de enfermedad en los animales domésticos (14,21,25,28 26).

Este paramixovirus se encuentra ampliamente distribuido en la República Mexicana, se ha reportado en los siguientes estados: Michoacán, Jalisco, Guanajuato (1980-81); Estado de México (1982); Distrito Federal, Nuevo León, Hidalgo, Tlaxcala, Querétaro, Tabasco y Yucatán (1983); Tamaulipas (1984) (7,18, 25) y Puebla (1986); Campeche, Quintana Roo (1990) y Sonora, Morelos, Colima y Veracruz (1991) (2).

Los brotes de POA se presentan durante todo el año, aumentando la incidencia en los meses de marzo a julio (6,12,18). La aparición de brotes, esta íntimamente relacionado con la entrada de animales infectados con o sin

INTRODUCCION

opacidad de la córnea a granjas serológicamente negativas o al ingreso de animales sanos en granjas infectadas; también tiene importancia la entrada de vehículos y personas procedentes de granjas con problemas de ojo azul (8,8,17,19,26).

Los signos clínicos varían de acuerdo con la edad de los animales infectados. Las camadas de menos de 30 días son afectadas en un 20 a 65 %, con una mortalidad cercana al 100%. Los principales signos nerviosos son: rigidez de miembros, incoordinación, espasmos musculares, postura y marcha anormal, hiperexcitabilidad, pupila dilatada, nistagmus, etc.. la muerte ocurre cerca de las 48 hrs. de iniciados los signos (15,16,19,20,25). los cerdos de más de 30 días de edad son menos susceptibles, siendo casi nula la aparición de signos nerviosos; alrededor del 10% desarrolla la opacidad de la córnea (13,14,19,20,22,24,28).

Los cerdos adultos no presentan signos. Las cerdas gestantes ocasionalmente desarrollan la opacidad corneal uni o bilateral, principalmente cerdas primerizas, pero sobretodo afecta los parámetros reproductivos: aumenta el número de hembras repetidoras (provoca la baja del 15 al 20% de la fertilidad del hato, persistiendo el efecto por un período de hasta 8 meses); incrementa el número de lechones nacidos muertos y fetos momificados (18,19,20,23,24). La inmunidad en el pie de cría persiste hasta por 15 meses (17,19,20). En verracos también existe disminución en la producción espermática y otras alteraciones. En varias granjas se ha

INTRODUCCION

encontrado la asociación de enfermedades como pleuroneumonía, enfermedad de Aujeszky y fiebre porcina clásica con la enfermedad de ojo azul lo que las hace más severas (26).

En el examen postmortem, las lesiones macroscópicas son ocasionales y ligeras. Las microscópicas son: encefalitis no supurativa, neumonía intersticial, uveítis anterior y edema corneal (13,15,18,21,24). Referente a los cambios en la biometría hemática, algunos autores la han notificado normal (7,29) y otros ligeramente elevada (linfocitosis) (5,7,30).

El diagnóstico se realiza con base en los signos clínicos y pruebas de laboratorio específicas como son: aislamiento viral, inmunofluorescencia directa (IF), inhibición de la hemoaglutinación (IHA), seroneutralización (SN) y ELISA (8,18,22).

Para esta enfermedad el principal control es el sanitario, evitando la entrada de animales enfermos, vehículos o personas procedentes de granjas infectadas. Aún no existe una vacuna comercial (20).

Como se mencionó al principio, el cerdo es la única especie afectada en forma natural, estudios serológicos demuestran que los humanos y los perros son refractarios a la infección. Experimentalmente se han infectado ratas, embriones de pollo y conejos, estos últimos seroconvierten pero son resistentes a la infección (14,19,21).

Como puede observarse aún quedan muchas dudas sobre esta enfermedad, en particular sobre la epizootiología,

INTRODUCCION

principalmente sobre el papel que otras especies pueden jugar en la transmisión de la enfermedad (o como reservorios), por lo anterior se ha seleccionado al gato doméstico para determinar si juega un papel como transmisor de la enfermedad de ojo azul, ya que la población felina tiene una amplia distribución dentro de las granjas porcinas por dos causas principales: son usados como control de roedores y como prueba biológica de campo para el diagnóstico de la enfermedad de Aujeszky.

HIPÓTESIS

El gato doméstico es susceptible a la infección por POA, con la consecuente seroconversión y actúa como portador para el cerdo.

OBJETIVOS

- 1.- Determinar si el POA es capaz de infectar y causar signos de enfermedad en el gato.
- 2.- Determinar si el POA causa respuesta inmunológica en el gato.
- 3.- Determinar si el gato, siendo una especie doméstica que esta en contacto permanente con los porcinos, puede ser portador del POA.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 15 gatos divididos en 3 grupos de 5 elementos cada uno, la edad de los animales variaba entre 1 y 3 años y el peso entre los 3 y 4 kgs.

Los gatos estuvieron en aislamiento, cada uno en una jaula para conejo.

Las actividades que se realizaron en los tres grupos fueron las siguientes:

Día 0 Toma de muestra sanguínea

Día 1 Inoculación intranasal

Día 4 Toma de hisopo nasal

Día 7 Toma de muestra sanguínea

Biopsia de tonsila

Día 14 Toma de muestra sanguínea

Día 21 Toma de muestra sanguínea y sacrificio.

Toma de muestras de pulmón, tonsila y encéfalo

Para el manejo de los gatos se utilizó como tranquilizante el clorhidrato de ketamina,² por vía intramuscular con una dosis de 20 mg/kg de peso vivo. Las

² KETALAR 50, LAB. PARKE DAVIS.

muestras sanguíneas fueron tomadas por vía yugular (1).

Inoculación intranasal. Los animales de los tres grupos fueron inoculados intranasalmente con 4 ml de antígeno de ojo azul con un título de 10^6 DICC (dosis infectantes en cultivo celular)/ ml.

Para establecer el título viral se utilizaron diluciones décuples del virus original, utilizando como diluyente el medio esencial de EAGLE, en ocho tubos (10^1 a 10^8).

La titulación del virus se hizo en microplaca de 96 pozos con fondo plano. Se ponen 0.050 ml de virus por pozo, hasta completar 8 pozos por cada dilución, posteriormente se agregan 0.150 ml de células PK-15 a cada pozo (las células estaban en una concentración de 100 000/ml). Después de siete días se observó el efecto citopático y se realizó la lectura. Para determinar el título se utilizó el método de Karber (2).

El primer grupo fue inoculado con bomba de aspersión y el segundo y tercero con un atomizador de perfumes.

Biopsia de tonsilas. Previamente tranquilizados los animales, se tomó una pequeña muestra de tonsila, tomada con pinzas y cortada con navaja de bisturí, posteriormente era introducido en un tubo estéril con medio de EAGLE.³

Hisopo nasal y ocular. Se tomó introduciendo el hisopo en ambos orificios nasales y pasándolo por el párpado inferior frotando firmemente sin lastimar las mucosas del animal. Las muestras se colocaron en tubos estériles con medio.

Una vez obtenidas todas las muestras se procedió a la

³IN VITRO. S. A. DE C. V.

MATERIAL Y METODOS

realización de las siguientes pruebas:

Muestras séricas:	Inhibición de la hemoaglutinación (método beta) Seroneutralización (método beta)
Hisopo nasal y ocular	Aislamiento viral en cultivo celular Inmunofluorescencia directa en cultivo celular
Biopsia de tonsila:	Aislamiento viral en cultivo celular Inmunofluorescencia directa en cultivo celular
Pulmón, tonsila:	Inmunofluorescencia directa Histopatología
Encéfalo:	Inmunofluorescencia directa Aislamiento viral Inmunofluorescencia directa en cultivo celular Histopatología

Preparación de sueros

La sangre de los animales (3 muestras/animal) se centrifugó a 1500 rpm durante 10' para la obtención del suero y se inactivaron a 56°C por 30', estos sueros se utilizaron en las pruebas de IHA y SN.

Técnica de la inhibición de la hemoaglutinación

Preparación del antígeno.

El antígeno utilizado en la prueba de IHA fue la cepa LPM⁴ pase 3 propagada en células PK 15, congelada y descongelada 2 veces para la liberación del virus de la célula; se titulo por la técnica de hemoaglutinación en microplacas de 96 pozos con fondo en V, utilizando como diluyente PBS (solución amortiguadora de fosfatos) con pH de 7.2. Las diluciones fueron de 1:2 a 1:256, el volumen inicial fue de 0.05 ml y el final fue de 0.025 ml, después se agregaron 0.025 ml de eritrocitos de cuye al 0.75%, en cada pozo.

El antígeno se utilizó ajustando el título a 8 Unidades hemoaglutinantes (UHA).

Técnica de la inhibición de la hemoaglutinación

La técnica de IHA (método beta para la titulación del suero) utilizada fue la descrita por Snyder (9).

Técnica de Seroneutralización

Preparación del antígeno

Se realizó con la misma técnica que la descrita en la

⁴Donada por el Dr. Moreno López.

MATERIAL Y METODOS

titulación del antígeno para inocular a los animales.

El título del antígeno fue de $10^{6.5}$ DICC/0.050 ml, para obtener las 300 dosis infectantes, que se utilizan para la prueba de SN, se dividió $10^{6.5} / 10^{0.5}$, que da como resultado 10^6 entonces el factor de dilución es 10,540, donde se tienen las 300 DICC.

Técnica de seroneutralización

La técnica de SN (Método beta para la titulación de sueros) que se utilizó, es la descrita por Snyder (9).

Procesamiento de los hisopos nasales y oculares

Se prepararon 4 tubos de Leighton con monoestrato de células PK-15, por cada muestra, en cada uno se colocó 0.5 ml de inóculo, mas 0.5 ml de medio. (Una vez obtenidos los hisopos fueron introducidos en tubos con medio estéril, el hisopo fue jugado dentro del medio, para que pudiera liberarse el virus en caso de existir, esta suspensión fue utilizada como inóculo).

La lectura al microscopio (para observar efecto citopático). así como la obtención de la laminilla para su tinción con conjugado específico de POA⁵, se realizó a las 48, 72 y 96 hrs, para cada una de las muestras.

Las laminillas obtenidas se fijaron sumergiéndolas en

⁵ Donado por el Dr. J. Kreese.

MATERIAL Y METODOS

acetona por espacio de una hora a 4 °C. posteriormente se colocaron en una cámara húmeda y se les agregó el conjugado específico de POA. Se metieron a incubar 30' a 37 °C, transcurrido el tiempo de incubación se lavaron en agua destilada y se montaron en portaobjetos con glicerina buferada.

El cuarto tubo se congelaba a las 96 hrs, para provocar la lisis celular con la consecuente liberación del virus de la célula, una vez realizado esto se tomó 0.025 ml de sobrenadante de cada tubo y se llevó a cabo la hemaglutinación en placa, con eritrocitos de cuye al 0.75% y de ave al 0.5% (3).

Como la inmunofluorescencia resultó negativa se dio hasta un tercer pase ciego antes de darlas como negativas definitivamente.

Procesamiento de las biopsias de tonsila

Las muestras fueron maceradas en medio esencial de EAGLE, se centrifugaron a 2500 rpm durante 20' y se filtraron para obtener el inóculo, que fue utilizado para infectar monoestratos de células PK-15 en tubos de Leighton, se colocó un ml de inóculo en cada tubo, y se utilizaron cuatro tubos por cada muestra.

El resto de la técnica se realizó igual a la descripción realizada en el procesamiento de hisopos nasales.

Procesamiento de los encéfalos, tonsilas y pulmones

La mitad de cada uno de los órganos se introdujo en frascos que contenían formol al 10% posteriormente se remitieron al Departamento de Patología[®] para su estudio histopatológico.

Inmunofluorescencia directa de los órganos

Con las mitades de los órganos que quedaron se realizaron cortes congelados de 4 micras de espesor, se fijaron con acetona por espacio de 3 minutos.

Una vez fijadas las laminillas, se colocaron en una cámara húmeda, se aplicó el conjugado específico contra POA, se incubaron a 37 C por 30', pasado el tiempo de incubación se lavaron y secaron, al final se les agregó glicerina y un cubreobjetos.

Inmunofluorescencia en cultivo celular de macerado de encéfalo

Con seis encéfalos, elegidos al azar, se procedió a realizar un macerado (inóculo), para intentar el aislamiento viral.

La técnica utilizada, fue igual a la usada en el procesamiento de biopsia de tonsila.

[®] FMVZ, UNAM.

RESULTADOS

Inhibición de la hemoaglutinación

Las muestras se obtuvieron a los 0, 14 y 21 días en los tres grupos.

Grupo 1: Los tres muestreos fueron negativos.

Grupo 2: El primer muestreo fue negativo.

En el segundo muestreo dos sueros fueron positivos (1:96 y 1:192).

En el tercer muestreo tres sueros fueron positivos (entre 1:48 y 1:96).

Grupo 3: El primer muestreo fue negativo.

En el segundo muestreo tres sueros fueron positivos (entre 1:24 y 1:96).

En el tercer muestreo los cinco sueros fueron positivos (entre 1:24 y 1:96).

Seroneutralización

Para esta prueba se utilizaron las mismas muestras que para la prueba anterior.

RESULTADOS

Grupo 1: Los tres muestreos resultaron negativos.

Grupo 2: El primer muestreo fue negativo.

En el segundo muestreo un suero fue positivo (1:16).

En el tercer muestreo cuatro sueros fueron positivos (entre 1:8 y 1:64).

Grupo 3: El primer muestreo fue negativo.

En el segundo muestreo cuatro sueros fueron positivos (entre 1:4 y 1:32).

En el tercer muestreo cuatro sueros fueron positivos (entre 1:4 y 1:64).

Hisopo nasal y ocular

Las muestras de los tres grupos fueron negativas a la inmunofluorescencia, a las 48, 72 y 96 hrs. en los tres pases ciegos.

Igualmente fueron negativas todas las muestras de 96 hrs., en los tres pases, en la prueba de HA en placa.

Biopsia de tonsila

Las muestras de los tres grupos fueron negativas a la inmunofluorescencia a las 48, 72 y 96 hrs. en los tres pases ciegos.

Igualmente fueron negativas a las 96 hrs. todas las muestras, en los tres pases, en la prueba de HA en placa.

RESULTADOS

Inmunofluorescencia directa de órganos

En los tres grupos todos los órganos fueron negativos.

Inmunofluorescencia en cultivo celular de macerado de encéfalo

Las muestras de los seis encéfalos, fueron negativas a la inmunofluorescencia a las 48, 72 y 96 hrs., en los tres pases ciegos.

Todas las muestras fueron negativas a las 96 hrs, en la prueba de HA en los tres pases.

Necropsia

Examen macroscópico. En ninguno de los 15 animales hubo cambios significativos.

Examen microscópico en ninguno de los 15 animales hubo cambios histopatológicos.

Cuadro 1. Resultado de la Serología

Gpo.	Ident.	Seroneutralización			Inhibición de la H. A.		
		Día 0	Día 14	Día 21	Día 0	Día 14	Día 21
1	1	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-
2	1	-	1:96	1:96	-	-	1:64
	2	-	1:192	1:96	-	1:16	1:64
	3	-	-	1:48	-	-	1:8
	4	-	-	1:96	-	-	1:32
	5	-	-	-	-	-	-
3	1	-	-	1:48	-	1:4	1:4
	2	-	1:24	1:96	-	1:16	1:64
	3	-	1:48	1:48	-	1:16	1:16
	4	-	-	1:24	-	-	-
	5	-	1:96	1:96	-	1:32	1:32

En el cuadro se muestran los resultados de la serología utilizando las técnicas de IHA y SN e los días 0, 14 y 21.

RESULTADOS

Cuadro 2. Cultivo Celular de Hisopo Nasal⁷

Grupo	Identificación	1er. Pase		2do. Pase		3er. Pase	
		48	72 96 H	48	72 96 H	48	72 96 H
1	1	-	- - -	-	- - -	-	- - -
	2	-	- - -	-	- - -	-	- - -
	3	-	- - -	-	- - -	-	- - -
	4	-	- - -	-	- - -	-	- - -
	5	-	- - -	-	- - -	-	- - -
2	1	-	- - -	-	- - -	-	- - -
	2	-	- - -	-	- - -	-	- - -
	3	-	- - -	-	- - -	-	- - -
	4	-	- - -	-	- - -	-	- - -
	5	-	- - -	-	- - -	-	- - -
3	1	-	- - -	-	- - -	-	- - -
	2	-	- - -	-	- - -	-	- - -
	3	-	- - -	-	- - -	-	- - -
	4	-	- - -	-	- - -	-	- - -
	5	-	- - -	-	- - -	-	- - -

H= Hemoaglutinación en placa a las 96 hr.

⁷ Los valores de los pases se refieren a las horas en las que se realizó la prueba de inmunofluorescencia.

RESULTADOS

Cuadro 3. Cultivo Celular de Biopsia de Tonsila⁶

Grupo	Identificación	1er. Pase 48 72 96 H	2do. Pase 48 72 96 H	3er. Pase 48 72 96 H
1	1	- - - -	- - - -	- - - -
	2	- - - -	- - - -	- - - -
	3	- - - -	- - - -	- - - -
	4	- - - -	- - - -	- - - -
	5	- - - -	- - - -	- - - -
2	1	- - - -	- - - -	- - - -
	2	- - - -	- - - -	- - - -
	3	- - - -	- - - -	- - - -
	4	- - - -	- - - -	- - - -
	5	- - - -	- - - -	- - - -
3	1	- - - -	- - - -	- - - -
	2	- - - -	- - - -	- - - -
	3	- - - -	- - - -	- - - -
	4	- - - -	- - - -	- - - -
	5	- - - -	- - - -	- - - -

⁶ Para los cuadros 3 y 5 ver nota del cuadro 2.

Cuadro 4. Inmunofluorescencia Directa de Organos

Grupo	Identificación	Encéfalo	Pulmón	Tonsila
1	1	-	-	-
	2	-	-	-
	3	-	-	-
	4	-	-	-
	5	-	-	-
2	1	-	-	-
	2	-	-	-
	3	-	-	-
	4	-	-	-
	5	-	-	-
3	1	-	-	-
	2	-	-	-
	3	-	-	-
	4	-	-	-
	5	-	-	-

Cuadro 5. Cultivo Celular de Macerado de Encéfalo

Grupo	Identificación	1er. Pase				2do. Pase				3er. Pase			
		48	72	96	H	48	72	96	H	48	72	96	H
2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

DISCUSIÓN

Considerando que la inoculación fue intranasal y que el sitio de replicación de varios agentes virales es la tonsila, se intentó detectar al POA en tonsilas al día siete postinoculación. Se ha considerado que la diseminación del virus hacia todo el organismo en el cerdo requiere entre 5 y 6 días.

El gato al no ser huésped natural pudo permitir la replicación del virus, pero es resistente a la infección.

Al sacrificarse los animales al día 21, se realizó la inmunofluorescencia directa de pulmón, tonsila y encéfalo, que fue negativa, se intentó el aislamiento, a partir de un macerado de encéfalo, y todas las muestras resultaron negativas.

En lo que respecta a la serología, el grupo 1 fue negativo tanto en la IHA como en la SN, en los grupos 2 y 3 si hubo respuesta inmune con rangos en IHA entre el 1:24 y 1:192, y en la SN entre 1:4 y 1:64. Esto pudo deberse principalmente a que el primer grupo fue inoculado con una bomba de aspersión, que provoca una amplia diseminación del antígeno en el ambiente, siendo poca la cantidad de virus que realmente

DISCUSION

penetró al organismo de los animales. El título del virus utilizado, es alto, sin embargo al ser inóculado en forma de aerosol, no puede ser determinada la cantidad real de virus que penetró en los animales. Para el segundo y tercer grupo se utilizó un atomizador de perfumes, lo que permitió una mejor y mayor entrada de virus en los animales, esto se refleja en la presencia de anticuerpos en los grupos 2 y 3.

En la IHA, se consideran como positivos a partir de un título de 1:16.

En la SN se consideran positivos a partir de un título de 1:8 (10).

ESTA TESIS HA DEBE
SER DE LA BIBLIOTECA

CONCLUSIONES

El virus no pudo ser aislado al día cuatro a partir de tonsila, ni de encéfalo, tonsila ni pulmón al día veintiuno, por medio de el cultivo celular, ni identificarlo por inmunofluorescencia. Sin embargo si hubo respuesta inmunológica a partir del día catorce, que se mantuvo y en algunos casos incremento en el día veintiuno, por lo que se concluye que el gato es de permitir la replicación del POA, sin enfermar y sin ser necesariamente un portador o eliminador del virus.

LITERATURA CITADA

1.- Benjamin, M. N.: Manual de patología clínica. *LINUSA*, México, D. F. (1989).

2.- Carreón, N. R.; Fuentes, R. M.; Stephano, H. A. y Ramírez, M. H.: Estudios preliminares del paramixovirus del ojo azul en la República Mexicana. Memorias del curso de actualización de enfermedades virales del cerdo. México, D.F. 1989. 78-82. *Asociación Mexicana de Veterinarios especialistas en Cerdos*, México, D.F. (1989).

3.- Cottral, G.E.: Manual of Standardized Methods for Veterinary Microbiology. *Cornell University Press*. Ithaca, New York. (1978).

4.- Cruz, G.H.; Martínez, L.A.; Correa, G.P. y Colinas, T.A.: Viabilidad del paramixovirus porcino de La Piedad, Mich. (Pp-LPH) a diferentes temperaturas. Memorias del XXIII Congreso de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. León. Gto. 1988. 84-86 *Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en cerdos*, México, D.F. (1988).

5.- Flores, J.J.; López, M.J. y Puentes, R.M.: Resultados preliminares sobre la inoculación experimental del paramixovirus de ojo azul POA en el pecaí de collar (*Dicotyles tajacu*). Tesis de Licenciatura, *Fac. de Med. Vet. y*

Zoot. UNAM, México, D.F. (1990).

6.- Fuentes, R.M.; Carreón, N.R.; Stephano, H.A. y Trujillo, O.M.: Frequency of Blue Eye Paramyxovirus Antibodies in Mexico Pigs. Proceeding of International Pig Veterinary Society, 11th Congress. Lausanne, Suiza 1990. 274. *International Pigs Veterinary Society, Suiza (1990).*

7.- Galina, P.L.; Martínez, L.A.; Correa, G.P.; Colinas, T.A.; Anaya, E.; Aguilar, R.T. y Ramírez, N.R.: Transmisión experimental del paramixovirus porcino de La Piedad, Mich. (Pp-LPH) en cerdos. Memorias de la XXIV Convención de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. Morelia, Mich. 1989. 84 *Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, México, D.F. (1989).*

8.- Gay, G.M.: Pruebas de laboratorio para el diagnóstico de ojo azul. Memorias del curso de actualización sobre enfermedades virales del cerdo. México, D.F. 1989. 83-84. *Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, México, D.F. (1989).*

9.- Hedberg, G.; Reed, R.L. and Snyder, K.T.: Manual the Diagnostic Virology Laboratory. *National Veterinary Services Laboratories, Ames, Iowa. (1988).*

10.- Hernández, J.P.; Sundquist, A.; Fuentes, R.M.; Díaz, O.A. y Moreno, L.J.: Evaluación de una vacuna experimental para el paramixovirus del síndrome del ojo azul. Memorias de el XXV Congreso Nacional de la Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Cerdos. Puerto Vallarta, Jal. 1990. 57-60. *Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, México, D.F. (1990).*

11.-Martínez, L.A. y Correa, G.P.: Un virus hemaglutinante similar a los paramixovirus que producen encefalitis y mortalidad en cerdos. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México. México, D.F. 1985, 81-82. *Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. (1985).*

12.- Martínez, L.A.; Correa, G.P.; Rosales, E.F.; Vázquez, P.C. y Garibay, S.M.: Respuesta de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación contra el paramixovirus porcino de La Piedad, Mich. en cerdos de diferentes edades. Memorias de la XXI Reunión Nacional de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. Puebla-Tlaxcala, 1986. 101-104. *Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, México, D.F. (1986).*

13.-Martínez, L.A.; Correa, G.P.; Rosales, E.P. y Garibay, S.M.: Perfil de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación contra el paramixovirus porcino de la Piedad, Mich. en una granja porcina. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México 1986. México, D.F. 1986. 162-170. *Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. (1986).*

14.-Moreno, L.J.; Correa, G.P. and Martínez, L.A.: Characterization of a Paramyxovirus Isolated from the Brain of Piglet in Mexico. *Arch. Virol.* 91:221-231 (1986).

15.-Pérez, P.F.; Stephano, H.A. y Gay, G.M.: Estudio histológico en lechones inoculados experimentalmente con el paramixovirus de ojo azul. Memorias del XXIII Congreso de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en cerdos. León, Gto. 1988, 81-83. *Asociación Mexicana de Veterinarios*

Especialistas en Cerdos. México, D.F. (1988).

16.-Stephano, H.A.; Gay, G.M. y Ramírez, T.T.: Estudio de un brote de encefalitis y opacidad de la córnea en lechones. Memorias del XVII Congreso de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. Ixtapa, Zihuatanejo. 1981, 43. *Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos*, México, D.F. (1981).

17.-Stephano, H.A. and Gay, G.M.: Experimental Studies on a New Viral Syndrome in Pigs Called "Blue Eye", Characterized by Encephalitis and Corneal Opacity. Proceeding of International Pig Veterinary Society 8th Congress, Ghent, Belgium 1984, 71. *Inter. Pig Vet. Soc. Ghent, Belgium*. (1984).

18.- Stephano, H.A.; Doperto, D.J. y Gay, G.M.: Estudio epidemiológico en las granjas porcinas afectadas por el síndrome de ojo azul. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México. 1985, 93. *SARH-UNAM*, México, D.F. (1985).

19.- Stephano, H.A. y Gay, G.M.: Síndrome del ojo azul en cerdos. Avances sobre enfermedades del cerdo. 1985 Memorias de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. México, D.F. 1985, 299-311. *Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos*, México, D.F. (1985).

20.- Stephano, H.A. y Gay, G.M.: Síndrome del ojo azul en cerdos. *Sintesis Porcina* 4(59), 42-49 (1985).

21.- Stephano, H.A. y Gay, G.M.: Síndrome del ojo azul en cerdos II. *Sintesis Porcina* 4(6), 9-14 (1985)

22.- Stephano, H.A. y Gay, G.M.: El síndrome del ojo azul en cerdos de granjas engordadoras del Bajío. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en Mexico, 1985, 84. *SARH-*

UNAH, México, D.F. (1985)

23.- Stephano, H.A. y Gay, G.M.: El síndrome de ojo azul en cerdos de granjas engordadoras. Memorias de la XX Reunión Nacional de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. Mérida, Yuc. 1985, 71-74. *Asociación de Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos*, México, D.F. (1986).

24.- Stephano, H.A. y Gay, G.M.: Encefalitis, falla reproductiva y opacidad de la córnea en cerdos (síndrome del ojo azul), asociado a un paramixovirus. Estudio Cronológico. *Vet. Méx.* 3(7-8):359-362 (1986).

25.- Stephano, H.A. y Gay, G.M.: Encefalitis, falla reproductiva y opacidad córnea, ojo azul. *Síntesis Porcina* 5(12), 26-39 (1986).

26.- Stephano, H.A. y Gay, G.M.: El síndrome de ojo azul. Una nueva enfermedad en cerdos asociada a un paramixovirus. *Vet. Méx.* 17, 120-122 (1986).

27.- Stephano, H.A. y Gay, G.M.: Análisis de la cepa del virus del síndrome de ojo azul aislado de la córnea de cerdos. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México, 1986, 163. SARH-UNAH México, D.F. (1986).

28.- Stephano, J.M.; Doporto, D.J. y Gay, G.M.: Estudio epidemiológico en dos granjas afectadas por el síndrome de ojo azul. Proceeding of International Pig Veterinary Society, 9th Congress. Barcelona, Esp. 1988, 455. *Inter. Fig. Vet. Soc.* Barcelona, Esp. (1986).

29.- Stephano, H.A.; Gay, G.M. and Ramirez, T.T.: Encephalomyelitis, reproductive failure and corneal opacity

(blue eye) in pigs, associated with a paramyxovirus infection. *Vet. Rec.* 122, 6-10 (1988).

30.- Stephano, H.A.; Fuentes, R.M.; Hernández, J.P.; Herradora, L.M. y Carreón, N.R.: Encefalitis y opacidad de la córnea en cerdos destetados, inoculados experimentalmente con el paramixovirus de ojo azul (POA). Memorias del XXIII Congreso de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. León, Gto. 1988, 58-59. *Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos*, México, D.F. (1988).