



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EVALUACION DE UNA VACUNA EXPERIMENTAL
CONTRA OJO AZUL EN CERDOS MEDIANTE LAS
PRUEBAS DE INMUNOGENICIDAD INOCUIDAD.
POTENCIA Y MEDICION DE LA INMUNIDAD
PASIVA EN LECHONES

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A
JOSE MARTIN FUENTES RODRIGUEZ

ASESORES: M.V.Z. MANUEL JOAQUIN GAY GUTIERREZ
M.V.Z. MARCO A. HERRADORA LOZANO
M.V.Z. ANGEL RETANA REYES



MEXICO, D. F.

1983

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 -----	1
INTRODUCCION -----	2
HIPOTESIS -----	5
OBJETIVOS -----	5
MATERIAL Y METODOS -----	6
RESULTADOS -----	9
DISCUSION Y CONCLUSIONES -----	24
LITERATURA CITADA -----	26

EVALUACION DE UNA VACUNA EXPERIMENTAL CONTRA OJO AZUL EN CERDOS MEDIANTE PRUEBAS DE INMUNOGENICIDAD, INOCUIDAD, POTENCIA Y MEDICION DE LA INMUNIDAD PASIVA EN LECHONES.

RESUMEN

Ojo Azul es una enfermedad de etiología viral que se caracteriza por producir encefalitis en lechones, falla reproductiva y opacidad de la córnea. A la fecha no se cuenta con una vacuna para prevención y control de esta enfermedad, el objetivo de este estudio fue, evaluar la respuesta inmune y la protección conferida por una vacuna inactivada contra OA. Para la prueba de inmunogenicidad e inocuidad se usaron 10 cerdos destetados, se vacunaron a las 6 y 8 semanas de edad y se midió la respuesta inmune en el suero por medio de la prueba de sueroneutralización (SN) frente a 100 DICC 50% del Paramixovirus de Ojo Azul cepa 1987 (POA 87), la media de anticuerpos (Ac) fue de 1:32; no se presentaron reacciones locales o generalizadas ni aumento en la temperatura en los cerdos vacunados y no vacunados en contacto; se midieron niveles de Ac por SN cada mes y 6 meses después de la primera aplicación de vacuna, se realizó prueba intradérmica, observándose en la zona de inoculación una reacción de hipersensibilidad de tipo IV en 3 de los 7 cerdos inoculados con POA 87 purificado. Además se vacunaron 6 hembras gestantes, 4 y 2 semanas antes del parto, se midió la inmunidad pasiva, determinando los niveles de Ac en el suero de sus lechones a los 4, 28 y 38 días. En este caso la media de anticuerpos por SN, fue mayor de 1:16, con disminución del 85% a los 28 días y del 100% a los 38. En la prueba de potencia se utilizaron 2 hembras gestantes, una de estas recibió dos aplicaciones de vacuna antes del parto; el desafío de las 2 camadas se hizo a los 4 días postparto observándose mortalidad del 100% en los lechones hijos de la hembra no vacunada y una protección del 71.4% en los de la madre vacunada. La SARH señala como requisito mínimo 80% de protección, sin embargo, de acuerdo a los resultados y análisis comparativos realizados, se concluye que la vacuna inactivada contra el Paramixovirus productor de Ojo Azul en cerdos, objeto de esta investigación, es adecuada para su empleo en el control de esta enfermedad, dadas sus características de inmunogenicidad e inocuidad.

INTRODUCCION

La Enfermedad de Ojo Azul (OA), es producto de la infección por un paramixovirus que se caracteriza por inducir signos nerviosos en lechones, afectandose del 20 al 65% de las camadas, con una morbilidad del 20 al 50% y una mortalidad cercana al 100% en diferentes brotes estudiados (5,6,12,24,30). Esta enfermedad puede producir opacidad de la córnea, que da como resultado una tonalidad azulosa en uno o en ambos ojos y que puede variar desde el 1 al 30% de los animales afectados; de donde deriva el nombre de Ojo Azul (5,37,40).

Evidencias de campo, señalan que el virus ocasiona fallas reproductivas como reabsorciones, fetos momificados, mortinatos, abortos, lechones débiles y baja en la fertilidad (5,37,40). Así como severos problemas de orquitis, epididimitis y atrofia testicular en cerdos de pie de crfa (4,45).

La enfermedad de OA, se presenta con mayor frecuencia en los meses de marzo y agosto (6,40). En las granjas de ciclo completo es común que se presenten los primeros casos clínicos en el área de maternidad, los lechones de 1 a 10 días de edad son los más afectados debido a la alta susceptibilidad que presentan a esta edad (6,40).

El *Paramixovirus* de Ojo Azul (POA), se aislado a partir de diversos órganos de lechones enfermos y el encéfalo es la muestra ideal para realizar el aislamiento (9,18,21,22,34). Este virus produce efecto citopatogénico (ECP), con formación de células multinucleadas en diferentes cultivos celulares tanto primarios como de línea (riñón de cerdo, tiroides de bovino, PK 15, ST, BHK 21, MDBK, ED y VERO entre otras), Tiene capacidad de hemoaglutinar eritrocitos de una gran variedad de especies con elusión espontánea - gallina, ganso, pato, cerdo, cabra, caballo, cuye, vaca, perro, ardilla, gato, conejo y humanos tipo A, B, AB y O - (6,18,24,33,36). El POA es sensible a los solventes lipídicos como el éter y el cloroformo, su genoma viral esta constituido por ARN y en el examen al microscopio electrónico de tinciones negativas de medio de cultivo sobrenadante de células infectadas, revela partículas entre 135 y 360 nm de diámetro, pleomorfas pero usualmente más o menos esféricas, su envoltura cubierta de proyecciones o espículas en la superficie y la nucleocápside de partículas virales rotas como una entidad simple de 20 nm de ancho por 1630 nm o más de largo (5,6,7,18,33).

En estudios serológicos se observó que el virus aislado no está relacionado con el *Paramixovirus* 1 (PMV) Sendai-Newcastle, PMV2, PMV3, PMV4, PMV6 y PMV7. Al igual que tampoco está relacionado con el virus de la Parainfluenza 1, 2, 3, 4a, 4b o 5 y no se ha relacionado con antisueros de *Paramixovirus* conocidos, así como tampoco con el *Coronavirus* de la Encefalitis por Virus Hemoaglutinante -EHV- (5,6,33,34,37).

En estudios de inmunofluorescencia el POA, fue negativo contra conjugados de Gastroenteritis transmisible, Parainfluenza 3, Coronavirus Bovino, Virus Sincitial Respiratorio, Pseudorabia y Encefalitis hemoaglutinante (5,6,33,34).

Este padecimiento se a diagnosticado en 12 estados de la República Mexicana desde su aparición en el año de 1980 en granjas de la Piedad Michoacán y sólo se a detectado en México (5,7,18,23,33,40,41,42). En ese mismo año se presentaron múltiples brotes en los estados de Guanajuato y Jalisco (5,10,18,33,38,42). A finales del año de 1982 se detectaron brotes en el Estado de México, en 1983 en el D.F., Nuevo León, Hidalgo, Tlaxcala, Tabasco y Queretaro; en 1984 en Tamaulipas. En 1986 la enfermedad cobró características de tipo epizootico en los 3 primeros Estados, donde inicialmente hizo su aparición (5,10,18,33,38,42).

A través de un estudio serológico realizado entre los años de 1989 y 1990, se detectaron anticuerpos contra OA por medio de la prueba de IHA en 5 Estados diferentes a los mencionados con anterioridad - Colima, Veracruz, Morelos, Campeche y Quintana Roo - (1,10,31,33).

Dado las características señaladas, en cuanto a morbilidad, mortalidad en lechones, alteraciones reproductivas y disminución general de los parámetros productivos, se presume un gran daño económico en granjas porcícolas que sufren brotes de OA (33,34,39).

El cerdo como todos los mamíferos domésticos, posee un sistema inmune que le permite sobrevivir como individuo durante su vida productiva (3,8,29,48). En la especie porcina no ocurre la transmisión de inmunoglobulinas (Ig) de la madre al feto a través de la placenta, debido a que esta es de tipo epitelicorial, en donde existen 6 capas de tejido entre la sangre fetal y la sangre materna; por tal razón, la única forma de transmisión de Ig en este caso, es mediante calostro que el lechón toma de la madre durante sus primeras horas de nacido (2,8,16,25,27,29,30).

El calostro es rico en IgG, IgM e IgA; la IgG representa del 65 al 90% de las inmunoglobulinas totales presentes, la mucosa intestinal del lechón absorbe la mayoría de las IgG y una escasa cantidad de IgM e IgA (8,27,29,46,47). La ingestión del calostro por parte del lechón, es de gran importancia durante las primeras horas después del nacimiento, ya que además de la inmunidad pasiva local conferida se transmite inmunidad pasiva sistémica mediante el paso de Ig al torrente sanguíneo a través de la mucosa intestinal, es importante señalar que la permeabilidad de esta mucosa para proteínas de alto peso molecular, se pierde totalmente a las 72 hrs de vida del lechón (8,27,29,48).

El grado de protección que proporciona el calostro a los lechones en la vida neonatal esta relacionado con el promedio de la toma de calostro por lechón, que ha sido estimado que tiene una variación de 105 a 1417 g por día (8,20,29). La concentración de gamaglobulinas maternas en el plasma del lechón, corresponde al 42% del total de

proteína a las 12 hrs, disminuye al 13% a las 2 semanas y al 7% a las 5 semanas de edad. La vida media de las Ig en el plasma del lechón, va de 6.5 a 22.5 días para la IgG, de 3.5 a 6.5 días para la IgM y de 2 a 3 días para la IgA (8,27,29).

Debido a la falta de métodos terapéuticos efectivos en contra de las enfermedades virales, la prevención a llegado a ser el principal método de control; como resultado el desarrollo y utilización de vacunas virales actualmente juega un papel preponderante en el control de las enfermedades virales que afectan al humano y a los animales domésticos (46). El tipo de vacunas más comunmente empleadas en contra de las enfermedades virales, son las de virus inactivado y las de virus modificado. Las primeras, son aquellas en las que los viriones por lo general son tratados con agentes químicos para suprimir su capacidad infectante. En este caso la vacuna debe contener concentraciones elevadas de virus para inducir una respuesta apropiada, además del uso de adyuvantes los cuales incrementan la respuesta inmunitaria hacia el Ag cuando se mezclan o combinan con el los adyuvantes son altamente heterogéneos con respecto a su naturaleza y origen, los hay orgánicos e inorgánicos como el aceite vegetal, alginato, saponina, carotenoides, toxinas de bacterias, componentes de la pared celular, aceite mineral, aluminio y sílice. Hay que tomar en cuenta que estas sustancias pueden producir en mayor o menor grado reacciones postvacunasles indeseables, locales o generalizadas (13,26,36).

Las vacunas atenuadas en terminos generales son mejores inmunógenos debido a que los virus modificados se replican en las células del hospedador induciendo así una mejor respuesta inmunológica (5,41,43).

En la actualidad no existe una vacuna contra OA, así como tampoco existe un tratamiento específico contra el virus (5,41,43).

En un futuro el disponer de una vacuna contra esta enfermedad, será sin duda una importante medida de control, previniendo a la pira contra posibles brotes de OA. Es indudable que después de todo lo citado, resulta imperante contar con una vacuna que permita el control de esta enfermedad; que en un principio deberá ser necesariamente del tipo inactivada, ya que la producción de vacunas atenuadas, implica llevar a cabo previamente un gran número de investigaciones complejas y al largo plazo que certifiquen su inocuidad.

HIPOTESIS

La aplicación de vacuna inactivada contra el Paramixovirus de Ojo Azul, producirá en cerdos, una respuesta inmune adecuada sin efectos secundarios y su aplicación en hembras gestantes, permitirá la transferencia pasiva de anticuerpos a los lechones a través del calostro, con lo que los lechones quedaran protegidos en un 80% contra esta enfermedad.

OBJETIVOS

Se determinaron los niveles de Igs contra el POA, mediante la prueba de SN, en los sueros de cerdos destetados y vacunados contra OA, en los calostros de cerdas vacunadas y en el suero de sus lechones a los 4, 28 y 38 días después de nacidos. Se comprobó la ausencia de signos clínicos atribuibles a la vacunación y se evaluó la protección conferida a los lechones a través del calostro, mediante la exposición a una cepa virulenta del POA y un análisis comparativo con la prueba de transferencia de inmunidad pasiva a lechones.

MATERIAL Y METODOS

PRUEBA DE INMUNOGENICIDAD E INOCUIDAD.— Para la realización de esta prueba, se utilizó una vacuna inactivada, elaborada con Parmixovirus de Ojo Azul cepa 1987 (POA 87) en cultivos celulares de origen porcino, con un título de $10^{6.5}$ DICC 50%/ ml, inactivada con Beta Propiolactona, estabilizada y adsorbida con gel de hidróxido de aluminio como adyuvante *; diez cerdos híbridos (York-Landrace) de 6 semanas de edad, cinco cerdas gestantes híbridas (York-Landrace) y una más de raza Landrace.

Los 10 cerdos destetados fueron alojados en una unidad de aislamiento con medio ambiente controlado del Dpto de Producción Animal: Cerdos (DPAC), de la FMVZ de la UNAM. Las 6 cerdas permanecieron en la maternidad de la Granja Experimental Porcina de la FMVZ de la UNAM; la alimentación de los animales fue con alimento comercial y se les suministroo de acuerdo a su edad.

De los 10 cerdos destetados, 5 fueron inmunizados a las 6 semanas de edad, con 3 ml de la vacuna inactivada por vía subcutánea postauricular y después de 15 días se llevó a cabo la revacunación siguiendo el mismo esquema en cuanto a dosis y vía de inoculación; tanto los cerdos vacunados como los no vacunados se mantuvieron en contacto durante el tiempo que duro el experimento.

El registro de las temperaturas de los 10 cerdos se inició 3 hrs antes de la primera vacunación, 3 horas después y diariamente durante 10 días. El mismo procedimiento se siguió cuando se aplicó la segunda dosis de vacuna. La observación clínica de los 10 cerdos se hizo durante los 10 días posteriores a la primera y segunda inmunización, estos animales fueron sangrados antes de la primera vacunación (para comprobar que eran libres de OA), antes de la segunda vacunación y 15 días después de la reinmunización, posteriormente cada mes hasta que alcanzaron su peso para abasto. Con los sueros se midieron los niveles de anticuerpos de OA mediante la prueba de SN frente a 100 DICC 50% de POA 87. Finalmente se realizó una prueba intradesmica (ID) 6 meses después de la primera aplicación de la vacuna contra el POA, mediante la inoculación intradérmica de 0.3 ml de POA 87 purificado *, en el pliegue posterior de la oreja.

* Proporcionado por Productora Nacional de Biológicos Veterinarios SARH (PRONABIVE).

Por otra parte las cerdas gestantes fueron vacunadas a las 4 y 2 semanas antes del parto, con 5.0 ml de la vacuna inactivada por vía subcutánea postauricular. Se tomaron muestras de suero antes de la primera y segunda inmunización y al momento del parto una muestra de calostro, además se analizaron los parámetros reproductivos de las cerdas antes y después de la aplicación de la vacuna, los lechones de estas hembras fueron sangrados a los 4, 28 y 38 días de edad.

Todas las muestras de suero y calostros se trabajaron mediante la prueba de sueroneutralización frente a 100 DICC 50% del POA 87.

PRUEBA DE POTENCIA. - Se utilizaron 2 hembras gestantes híbridas York Landrace, cada una ocupó un aislamiento del DPAC y la alimentación fue la recomendada para su etapa de desarrollo. Una de las cerdas se inmunizó a las 4 y 2 semanas antes del parto con la vacuna inactivada contra el POA, mediante la aplicación de 5.0 ml por vía subcutánea postauricular. Se obtuvieron muestras de sangre antes de la primera y segunda vacunación y un día antes del parto.

Las hembras se indujeron al parto al día 112 de gestación, con aplicación de 2.5 ml de Iliren * por vía intramuscular. Al momento del parto se tomó una muestra de calostro y una muestra de sangre de los lechones antes de que estos mamaran.

Los lechones de las 2 camadas fueron desafiados al cuarto día de nacidos con la aplicación de 0.5 ml por vía intratraqueal y 1.5 ml por vía intranasal de POA cepa Producción Animal Cerdos 1992 (PACLV1-92) **, con un título de 10 4.5 DICC 50%/ml. Al mismo tiempo se aplicaron 2.0 ml de hierro por vía intramuscular y se tomó la temperatura corporal 3 veces al día durante 6 días, los lechones que presentaron fiebre fueron sangrados para intentar el aislamiento del virus en cultivos celulares. La observación clínica fue durante 10 días después del desafío, los lechones que manifestaron signos nerviosos se sacrificaron y a la necropsia se obtuvieron muestras de **encefalo**, pulmón y tonsilas para estudios de histopatología, aislamiento viral e inmunofluorescencia directa, realizados en los Departamentos de Patología y Virología de la FMVZ de la UNAM, respectivamente.

La técnica de inmunofluorescencia se llevó a cabo de acuerdo a la técnica descrita por Cottral (10), se emplearon improntas de la corteza cerebral sobre portaobjetos, fijadas con acetona durante 3 minutos y teñidas con conjugado específico al POA ***.

* Tiaprostrometanol. Laboratorios Hoechst.

** Proporcionado por el Dpto de Producción Animal: Cerdos de la FMVZ de la UNAM.

*** Proporcionado por el National Veterinary Services Laboratories, USDA, APHIS, VS. AMES, IOWA.

Los aislamientos virales se hicieron a partir de lechones que presentaron signos nerviosos, los que fueron sacrificados entre las 4 y 8 hrs después de que presentaron postración; durante la necropsia se obtuvieron los encéfalos y con la porción anterior media y posterior de la corteza cerebral se prepararon los inóculos y se infectaron cultivos celulares de línea PK 15 siguiendo el método descrito por Gay (18).

La prueba de sueroneutralización se realizó en microplacas de 96 pozos para cultivo celular, de acuerdo a las técnicas descritas por Hsjung y Gay (18,19). Los antígenos y antisuero específico a OA fueron proporcionados por la Productora Nacional de Biológicos Veterinarios (PRONABIVE). La lectura se llevo a cabo a las 48 hrs mediante la prueba de hemoadsorción con eritrocitos de pollo al 2% (18). El título correspondio a la dilución más alta, capaz de inhibir la adsorción de eritrocitos en el 100% del monoestrato celular (18).

RESULTADOS

La prueba de inmunogenicidad e inocuidad en los 10 cerdos destetados señalaron en primer lugar que hay presencia de Igs contra el POA después de la primera y segunda inmunización y posteriormente durante los muestreos mensuales en los que se observa un decremento progresivo en los niveles de Igs, estos títulos variaron desde 1:8 hasta 1:64 (gráfica 1) y en segundo lugar que las temperaturas de los 10 cerdos (vacunados y en contacto) durante los días de prueba no mostraron una variación significativa (gráficas 2a, 2b, 3a y 3b). Los resultados de la prueba intradérmica en la cual 3 de los 7 cerdos vacunados presentaron inflamación en la zona de inoculación con el POA purificado son resumidos en la gráfica 4.

La prueba de SN realizada con los sueros y calostros de las 6 hembras indican una respuesta inmune, debido a la presencia de títulos de anticuerpos en el suero en un rango que va de 1:4 hasta 1:16 después de la primera aplicación de vacuna y en el calostro de 1:16 hasta 1:64 posterior a la segunda aplicación (gráfica 5).

Los resultados de la prueba de SN, realizada a los sueros de los lechones hijos de la 6 cerdas gestantes vacunadas se resumen en las gráficas 6 a la 11.

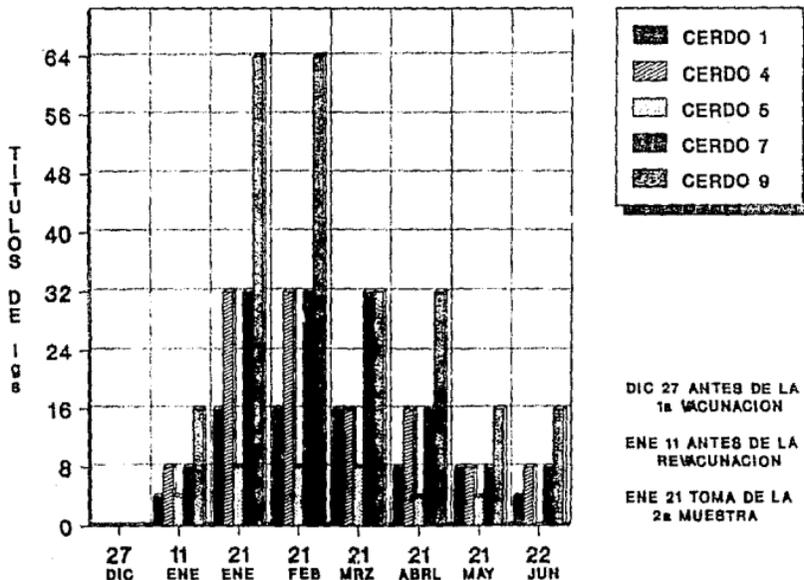
En la prueba de potencia, 2 de los lechones de la hembra # 190 que recibió 2 aplicaciones de la vacuna inactivada contra OA, tuvieron un título de anticuerpos de 1:4 y murieron con signos clínicos característicos a OA a los 10 días postdesafío, 2 más con título de 1:8 y 3 con título 1:16 sobrevivieron a la infección con la cepa PACLV1-92, dando como resultado una protección del 71.4% (gráfica 12).

La toma de temperaturas de los lechones de las dos camadas empleadas en la prueba de desafío se aprecian en las gráficas 13 y 14 respectivamente.

Finalmente los resultados de las pruebas de inmunofluorescencia directa, aislamiento viral e histopatología se resumen en el cuadro 1.

GRAFICA 1 PRUEBA DE INMUNOGENICIDAD E INOCUIDAD

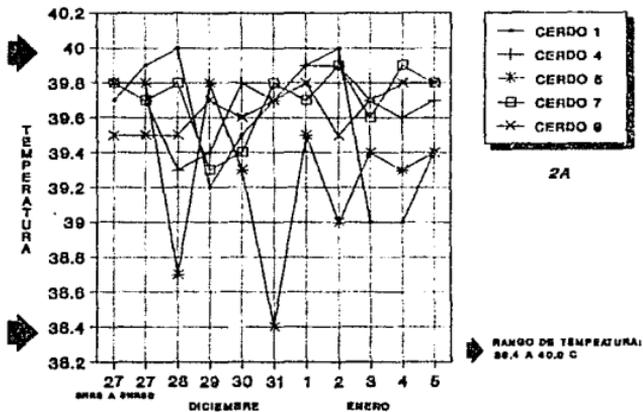
TITULOS DE Iga EN EL SUERO DE CERDOS DESTETADOS Y VACUNADOS CONTRA EL POA CON MUESTREOS MENSUALES HASTA ALCANZAR SU PESO DE ABASTO. PRUEBA DE SM EN CELULAS PK16 FRENTE A 100 DIC50% DEL POA-87



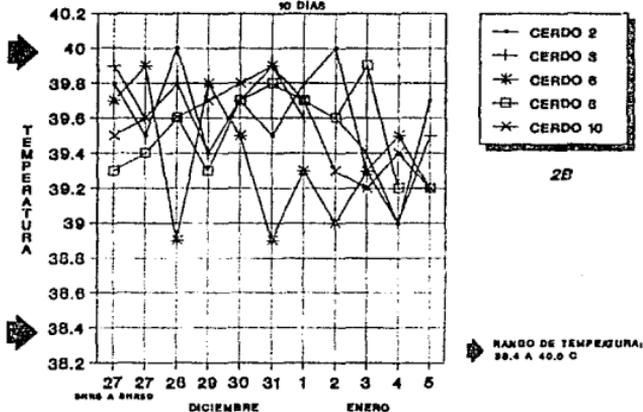
NOTA: LOS CERDOS 2,3,6,8 Y 10 NO INMUNIZADOS EN CONTACTO CON VACUNADOS, EN NINGUNO DE LOS MUESTREOS MANIFESTARON NIVELES DE Iga

GRAFICAS 2A Y 2B PRUEBA DE INMUNOGENICIDAD E INOCUIDAD

TEMPERATURAS DE LOS CERDOS DESTETADOS TOMADAS 3 HRS ANTES DE VACUNAR, 3 HRS DESPUES DE LA APLICACION Y POSTERIORMENTE DURANTE 30 DIAS.

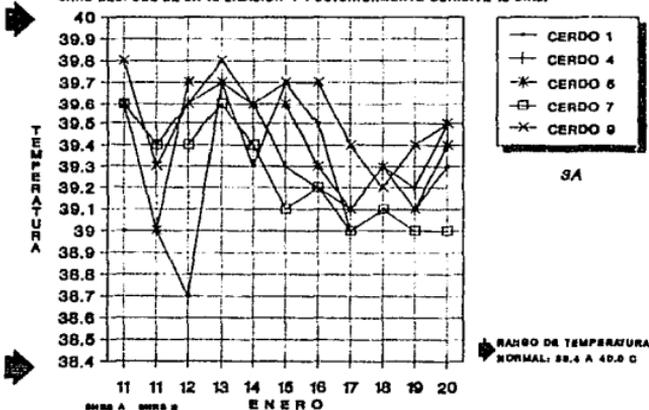


TEMPERATURAS DE LOS CERDOS DESTETADOS EN CONTACTO TOMADAS 3 HRS ANTES DE VACUNAR, 3 HRS DESPUES DE LA APLICACION Y POSTERIORMENTE DURANTE 30 DIAS.

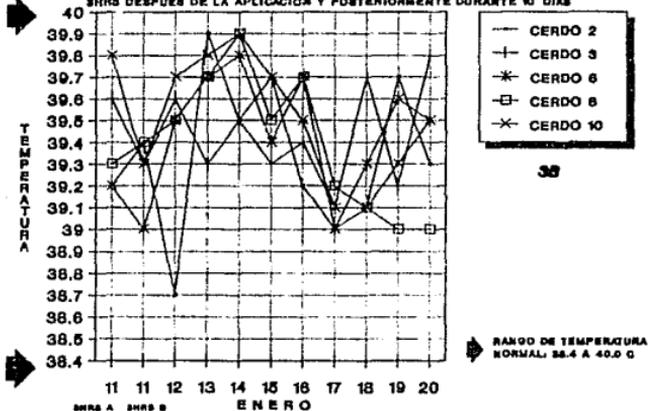


GRAFICA 3A Y 3B PRUEBA DE INMUNOGENICIDAD E INOCUIDAD

TEMPERATURAS DE LOS CERDOS DESTETADOS TOMADAS 3HRS ANTES DE REVUCUNAR, 3HRS DESPUES DE LA APLICACION Y POSTERIORMENTE DURANTE 10 DIAS.



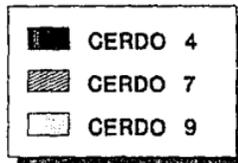
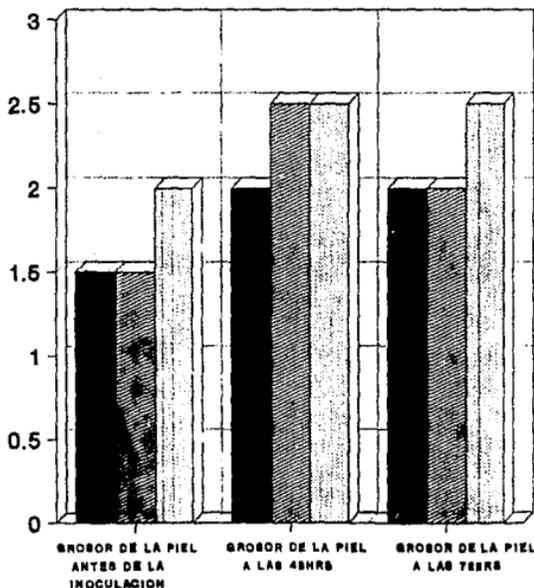
TEMPERATURAS DE LOS CERDOS DESTETADOS EN CONTACTO TOMADAS ANTES DE REVUCUNAR, 3HRS DESPUES DE LA APLICACION Y POSTERIORMENTE DURANTE 10 DIAS



GRAFICA 4 PRUEBA DE IMUNOGENICIDAD E INOCUIDAD

13

PRUEBA INTRADERMICA 6 MESES DESPUES DE LA 1^a APLICACION DE LA VACUNA CONTRA EL POA. MEDIANTE LA APLICACION (ID) EN LA PORCION POSTERIOR DE LA OREJA DE 0.8ml DE POA87 PURIFICADO PROPORCIONADO POR PRONABIVE



EL GROBOR DE LA PIEL
ESTA DADO EN mm

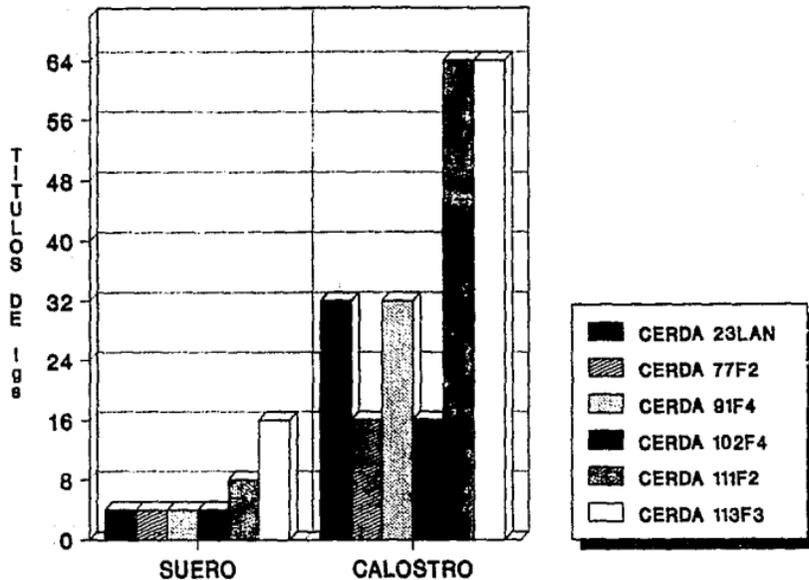
LOS CERDOS: 2,3,6,8 Y 10
NO INMUNIZADOS EN CONTACTO
CON VACUNADOS

EL CERDO NUMERO CINCO
NO PRESENTO REACCION

GRAFICA 5 PRUEBA DE INMUNOGENICIDAD E INOCUIDAD

14

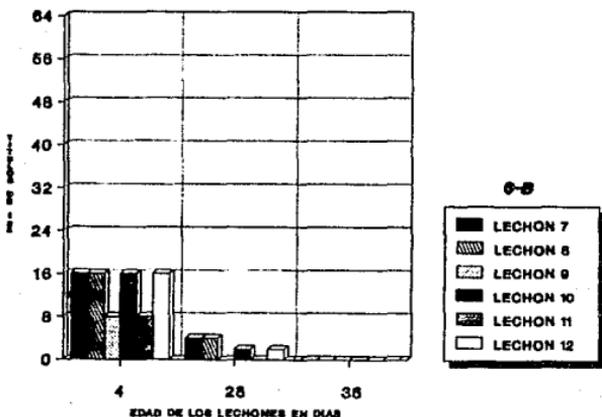
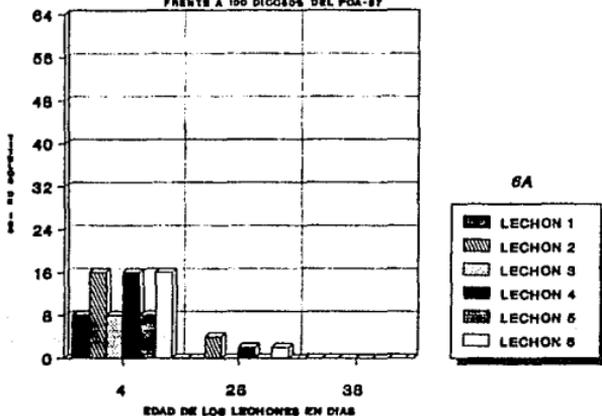
TITULOS DE IgG EN SUERO Y CALOSTRO DE CERDAS INMUNIZADAS CONTRA EL POA
MEDIANTE LA PRUEBA DE BN EN CELULAS PK15 FRENTE A 100 DICG50%
DEL POA-87



NOTA: LOS SUEROS SE OBTUVIERON A LOS 15 DIAS DESPUES DE LA 1ª VACUNACION,
Y LOS CALOSTROS 14 DIAS DESPUES DE LA 2ª INMUNIZACION (AL PARTO)

GRAFICAS 6A Y 6B PRUEBA DE INMUNOGENERIDAD E INOCUIDAD

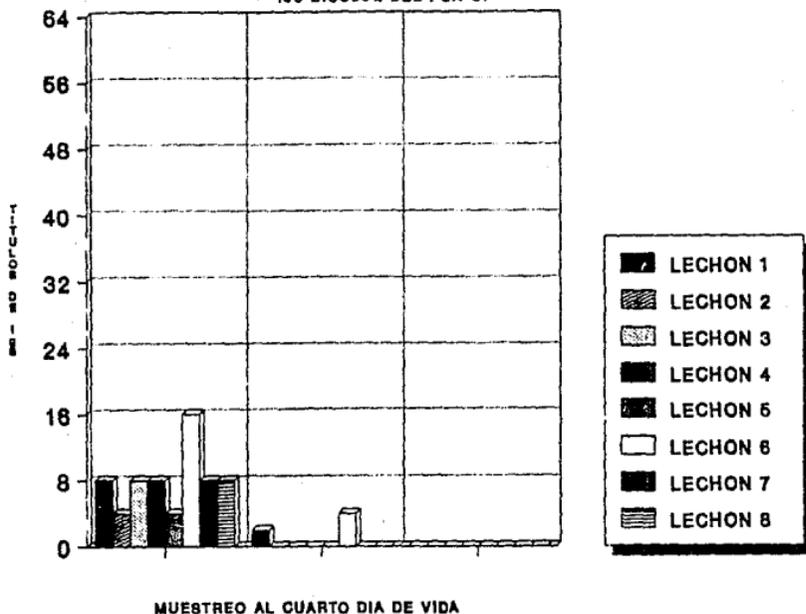
TITULOS DE ISO EN EL SUERO DE LOS LECHONES DE LA HEMBRA ES-LANDRAGE 4 DIAS DESPUES DE NACIDOS Y DE HABER INGERIDO CALostro, MEDIANTE LA PRUEBA DE SN EN CELULAS PMS FRENTE A 100 DICCSOS DEL POA-87



GRAFICA 7 PRUEBA DE INMUNOGENICIDAD E INOCUIDAD

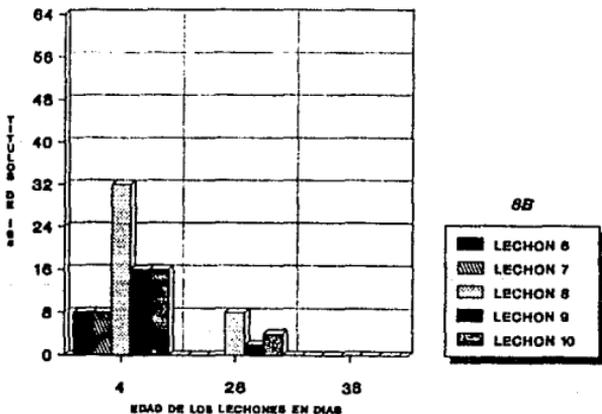
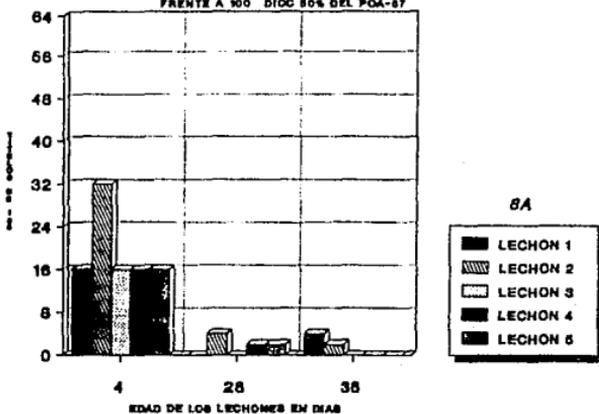
16

TITULOS DE IgM EN EL SUERO DE LOS LECHONES DE LA CERCA 77F2, DESPUES DE HABER INGERIDO CALOSTRO. MEDIANTE LA PRUEBA DE 8N EN CELULAS PK16 FRENTE A 100 DIC50% DEL POA-87



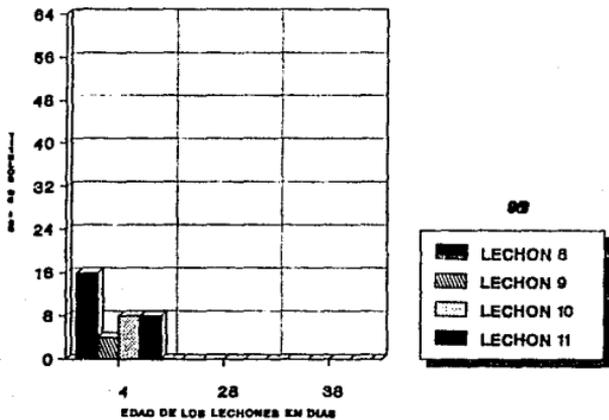
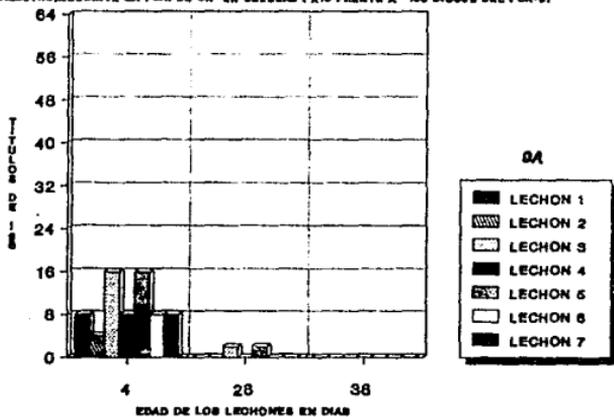
GRAFICAS 8A Y 8B PRUEBA DE INMUNOGENICIDAD E INOCUIDAD

TITULOS DE IgM EN EL SUERO DE LOS LECHONES DE LA MEMBRA 91-73 DESPUES DE HABER INGERIDO CALOSTRO. MEDIANTE LA PRUEBA DE BN EN CELULAS PK15 FRENTE A 100 DICC 80% DEL PGM-87



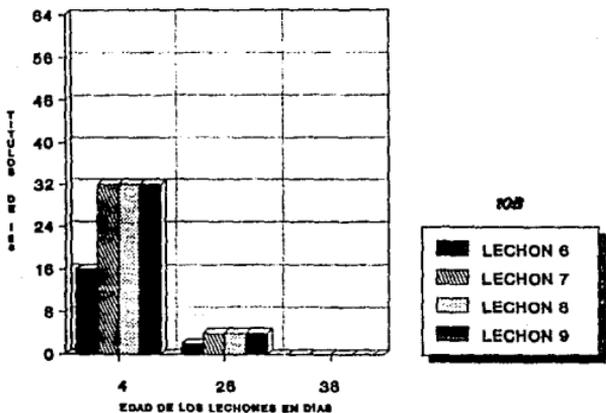
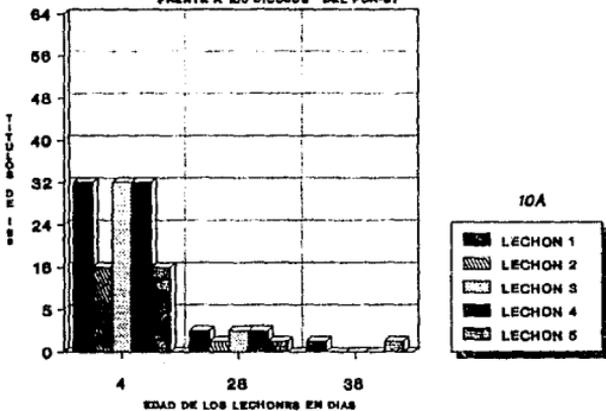
GRAFICAS 9A Y 9B PRUEBA DE INMUNOGENICIDAD E INOCUIDAD

TITULOS DE IgM EN SUERO DE LOS LECHONES DE LA HEMERA 108-74 DESPUES DE HABER INGERIDO
 GALOSTRO MEDIANTE LA P.M. DE 98 EN CELULAS FX10 FRENTE A 100 DÍAS DEL P.O.A.-67



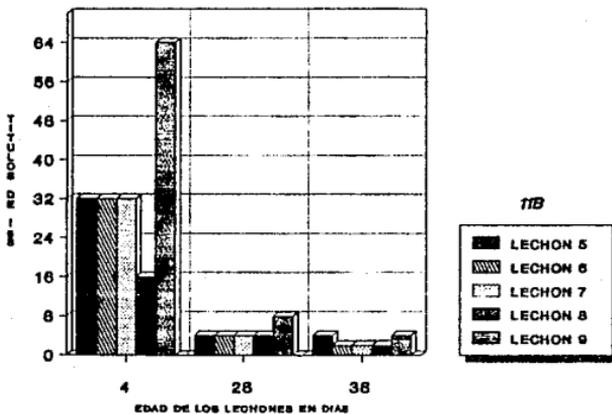
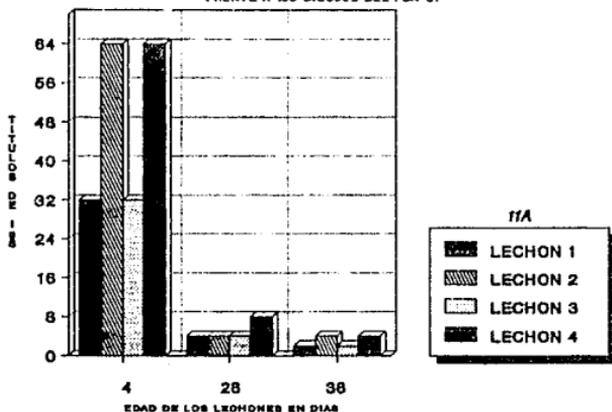
GRAFICAS 10A Y 10B PRUEBA DE INMUNOGENICIDAD E INOCUIDAD

TITULO DE IgG EN EL SUERO DE LOS LECHONES DE LA HEMBRA 111-F2 DESPUES DE HABER INGERIDO CALOSTRO MEDIANTE LA PRUEBA DE SM EN CELULAS PK9 EN EL PASO DEL POA-87 FRENTE A 100 DICEDOS DEL POA-87



GRAFICAS 11A Y 11B PRUEBA DE INMUNOGENICIDAD E INOCUIDAD

TITULOS DE I₂ EN EL SUERO DE LOS LECHONES DE LA HEMBRA 119-F3 DESPUES DE HABER INGERIDO CALOSTRO MEDIANTE LA PRUEBA DE SM EN CELULAS PK16 FRENTE A 100 MICROS% DEL PDA-87

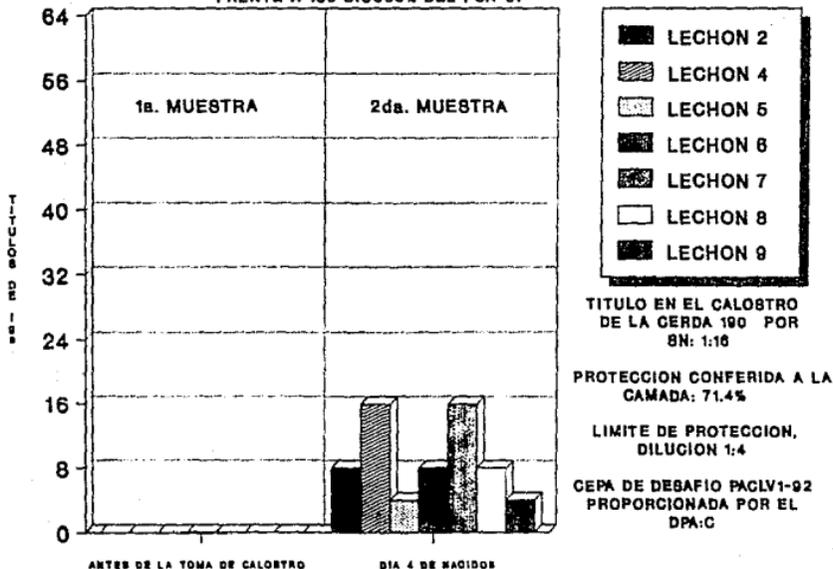


GRAFICA 12

PRUEBA DE POTENCIA

21

TITULOS DE IgM EN EL SUERO DE LOS LECHONES DE LA CERDA 190 DESPUES DE INGERIR CALOSTRO Y ANTES DEL DESAFIO. MEDIANTE LA PRUEBA DE SN EN CELULAS PK15 FRENTE A 100 DIC650% DEL POA-87

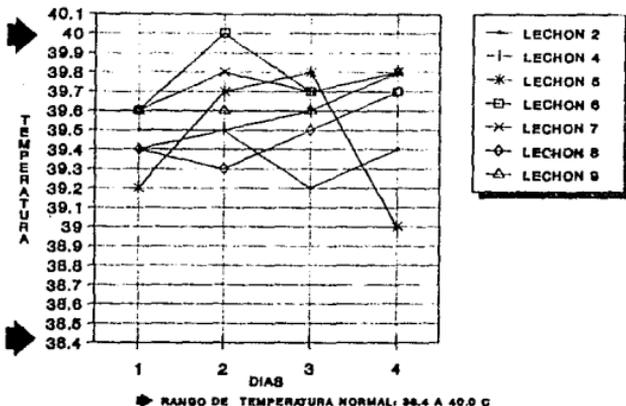


LOS LECHONES 5 Y 9 MURIERON A LOS 10 DIAS POST-DESAFIO
 LOS LECHONES DE LA ? 132 MURIERON A LOS 8 Y 5 DIAS POST DESAFIO

GRAFICA 13

PRUEBA DE POTENCIA

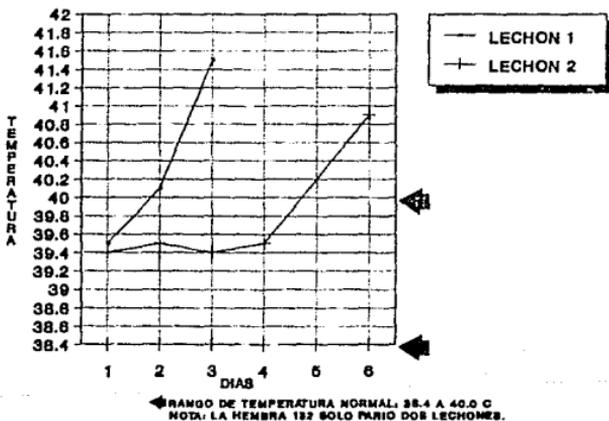
TEMPERATURA DIARIA PROMEDIO DE LOS LECHONES DE LA HEMBRA 190
TOMADA A PARTIR DEL DIA DE DESAFIO



GRAFICA 14

PRUEBA DE POTENCIA

TEMPERATURA DIARIA PROMEDIO DE LOS LECHONES DE LA HEMBRA 182
TOMADA A PARTIR DEL DIA DE DESAFIO



CUADRO 1 PRUEBA DE POTENCIA
 RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS PATOLOGICOS Y VIROLOGICOS

Nº DE CERDO	PRESENCIA DE SIGNOS		HISTOPATOLOGIA DE ENCEFALO		AISLAMIENTO VIRAL	
			IF E		E	S
	1	-	NT	NT	NT	NT
	2	-	NT	NT	NT	NT
	3	-	NT	NT	NT	NT
	4	+	+	NT	NT	+
HEMBRA 190	5	+*	+	ENCEFALITIS NO SUPURATIVA MULTIFOCAL MO DERADA	+	+
	6	-	NT	NT	NT	NT
	7	-	NT	NT	NT	NT
	8	-	NT	NT	NT	NT
				MENINGOENCEFA	+	+
	9	+*	+	LITIS NO SUPU RATIVA GRAVE MULTIFOCAL		
				EDEMA EN EL ESPACIO PERIVASCULAR Y HEMORRAGIAS	+	+
				MENINGOENCEFA		
				LITIS NO SUPU RATIVA FOCAL DISCRETA.	+	+

HEMBRA
132

NT= MUESTRA NO TRABAJADA.
 IF= INMUNOFLOURESCENCIA DIRECTA.
 E= ENCEFALO.
 S= SANGRE. *= SACRIFICIO A LOS 10 DIAS.
 1= SACRIFICIO A LAS 48HRS.
 2= SACRIFICIO A LAS 72HRS.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

La prueba de potencia, indicó que la vacuna inactivada contra el Paramixovirus de Ojo Azul en cerdos, confirió una protección del 71.4% a los 7 lechones que adquirieron inmunidad pasiva, a través del calostro de su madre que recibió previamente dos aplicaciones de dicha vacuna. Este resultado de acuerdo al Manual de Requerimientos Mínmicos de Constatación para Biológicos Veterinarios de la SARH (35), debería ser considerado como insatisfactorio, sin embargo es importante tomar en cuenta los puntos que a continuación se describen:

El número de animales empleados para el desarrollo de la prueba de potencia no fue representativo, la cepa de desafío utilizada es altamente virulenta (comunicación DPAC) y se desconoce la DLC 50%, las instalaciones en que se desarrollo la prueba no fueron las apropiadas ya que en estos casos se requiere de una sala de maternidad (11). Asimismo, la toma de temperatura de los lechones 3 veces al día después del desafío, fue un manejo que causo estrés tanto a la madre como a los lechones, lo que muy probablemente provocó inmunosupresión (3).

También es relevante hacer notar que los 2 lechones de la hembra vacunada con título de anticuerpos contra el POA de 1:4 en la prueba de SN, murieron 10 días después del desafío, otros 2 con título 1:8 y 3 con título 1:16, sobrevivieron; mientras que los controles de la hembra no vacunada murieron a los 3 y 5 días después del desafío, este último periodo de incubación corresponde al que se da en forma natural (37,40,41). El diagnóstico histopatológico, las pruebas de IF y los aislamientos virales hechos a partir de órganos de los lechones que murieron con signos nerviosos, confirman que estos murieron a causa de la infección con POA.

Este estudio indica que lechones con títulos de anticuerpos iguales o mayores a 1:16 en la prueba de SN, tienen una protección cercana al 100%; Por lo tanto, al relacionar en esta investigación, la prueba de potencia con la de transferencia de inmunidad pasiva a lechones, se observó que el título promedio de anticuerpos contra el POA fue mayor a 1:16 (1:18.7, 4.6 Log de base 2), estos resultados indican que esta vacuna es capaz de conferir una protección mayor al 80% en lechones que reciben inmunidad a través del calostro de madres vacunadas.

En cuanto al análisis de la duración de la inmunidad pasiva en lechones, este señaló que los niveles de anticuerpos maternos disminuyen en un 85% a los 28 días y desaparecen totalmente a los 38; de acuerdo a estos resultados se recomienda aplicar la vacuna inactivada contra Ojo Azul al destete o una semana después del mismo.

Por otra parte la prueba realizada en los 10 lechones destetados demuestra que la vacuna inactivada contra el Paramixovirus de Ojo Azul, resulto totalmente inócua y

produjo una respuesta inmune después de 2 aplicaciones, equiparable a lo observado en las hembras gestantes, con una media de anticuerpos mayor a 1:16; que de acuerdo a lo discutido con anterioridad, son niveles de anticuerpos adecuados para inducir una protección mayor al 80%. La inocuidad de la vacuna, se confirma también en el análisis de los parámetros productivos, realizado a las 6 hembras gestantes, en donde no se observó ningún cambio atribuible a la aplicación de la vacuna.

Por lo anteriormente señalado, consideramos que la vacuna inactivada contra el Paramixovirus productor de Ojo Azul en cerdos, objeto de esta investigación, es adecuada para su empleo en el control de esta enfermedad, dada sus características de inmunogenicidad e inocuidad.

LITERATURA CITADA

- 1.- Arellanes, A.E.: Inoculación experimental del Paramyxovirus del Ojo Azul en el gato doméstico (*Felis catus*). Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. UNAM. México, D.F. 1992.
- 2.- Austin, R.C., Short, V.R. Patrones de reproducción. 1a ed. La prensa médica mexicana. México, D.F. 1982.
- 3.- Barbosa, H.: El cerdo en la investigación biomédica: Inmunidad intestinal pasiva y producción de antisueros. Avances en enfermedades del cerdo. AMVEC. México, D.F. 1985
- 4.- Campos, H.R., Carbajal, S.M.: Transtornos reproductivos en los sementales de una granja porcina de ciclo completo ante un brote de ojo azul. Memorias de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. Morelia, Mich. 1989 62-64 AMVEC México, D.F. (1989)
- 5.- Carreón, N.R.: Frecuencia de anticuerpos contra el Paramyxovirus del Ojo Azul en cerdos del altiplano y norte de México. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. UNAM. México, D.F. 1989.
- 6.- Carreón, N.R.: Más sobre la enfermedad del Ojo Azul Síntesis Porcina 1: 60-62 (1990).
- 7.- Carreón, N.R.: Más sobre la enfermedad del Ojo Azul II. Síntesis Porcina 2: 34-36 (1990).
- 8.- Cisneros, M.F., Gonzáles, V.D.: Maduración del sistema inmune del cerdo lactante. Avances en enfermedades del cerdo. AMVEC. México, D.F. 1985.
- 9.- Correa, G.P., Martínez, A., Ericsson, A., And Moreno, L.J.: Characterization of a Paramyxovirus isolated from the brain of a piglet in Mexico. Proceeding of International Pig Veterinary Society Congress. Barcelona (1986).

- 10.- Cottral, G.E.: Manual of Standardized Methods for Veterinary Microbiology. Cornell University Press Ithaca, New York (1978).
- 11.- English, P.R., Smith, W.J., Alastair, M.: La cerda: como mejorar su producción. 2a edic. El manual moderno. México, D.F. 1985.
- 12.- Flores, J.I.: Inoculación experimental del Paramyxovirus del Ojo Azul (POA) en el pécarí de collar (*Dicotyles tajacu*). Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. UNAM. México, D.F. 1991.
- 13.- Francois, B.J.: Inmunología la Ed. Limusa, México, D.F. 1984
- 14.- Fuentes, R.M., Carreón, N.R., Ramirez, M.H., Trujillo, O.M. y De Fraire, I.: Estudio piloto de la frecuencia de anticuerpos contra el Paramyxovirus del Ojo Azul en cerdos en la República Mexicana. Vet. Mex; 1:37-39 (1992).
- 15.- Gail, S., Gustafson, D.P., Kanitz, C.L.; Sun, I.L.: Delayed hypersensitivity reaction to Pseudorabies virus as field diagnostic test in swine. Javma, 173 (11):1490-1494 (1978).
- 16.- Galina, C., Santiel, A. y Valencia, J.: Reproducción de animales domésticos. la. Ed. Limusa México, D.F: 19865
- 17.- Gay, G.M., Stephano, H.A. y Vergara, LL.M.: Determinación de anticuerpos contra un virus aislado en cerdos afectados con el Síndrome del Ojo Azul en sueros de perros en contacto. Memorias de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. Mérida, Yuc. 1985 69-70 AMVEC México, D.F. (1985)
- 18.- Gay, G.M.: Implementación de la prueba de ELISA, para el serodiagnóstico de ojo azul en cerdos. Tesis de Licenciatura. FMVZ-UNAM México, D.F. 1989.
- 19.- Hsiung. G.D. and Henderson, J.R.: Diagnostic Virology New Haven and London Yale University Press (1964).

- 20.- López, E., Rico, J., Muñoz, F., Arriaga, C., Larios, F. y Morilla, A.: Efecto del calostro sobre la biometría hemática y proteínas plasmáticas durante los primeros 7 días de vida del lechón. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México. SARH México, D.F. 1983
- 21.- López, M.J., Correa, G.P., Martínez, A., Ericsson, A.: Characterization of a paramyxovirus isolated from the brain of a piglet in Mexico. Arch. Vir. 91:221-231 (1986)
- 22.- Martínez, L.A., Correa, G.P., Fajardo, M.R., Garibay, M., Moreno, L.J.: Aislamiento y estudio de un virus parecido a los paramixovirus. Memorias de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. Mérida, Yuc. 1985, 75-78 AMVEC México, D.F. (1985)
- 23.- Martínez, L.A., Correa, G.P., Rosales, E.F., Vazquez, P.C., Garibay, S.H.: Respuesta de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación (IH) contra el paramyxovirus porcino de La Piedad Michoacán (LPM) en cerdos de diferentes edades. Memorias de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. Tlaxcala-Puebla 1986 101-103 AMVEC México, D.F. (1986)
- 24.- Martínez, L.A., Correa, G.P., Colinas, T.A.: Síndrome de Ojo Azul producido por el Paramyxovirus porcino. Porcira; 177:35-52 (1991).
- 25.- Mc Donald, E.L.: Endocrinología Veterinaria y Reproducción 4a. Ed. Interamericana México, D.F. (1991)
- 26.- Mohány, B.S., Dutta, K.S.: Virología Veterinaria. 1a ed. Interamericana. México, D.F. 1983.
- 27.- Montaraz, C.J. y Pijoan, A.C.: Inmunidad en el tracto gastrointestinal Porcira 73: 5-11 (1980)
- 28.- Morilla, G.A.: Un puntos de vista sobre la importancia de la inmunización en la clínica porcina. Avances en enfermedades del cerdo. AMVEC Mexico, D.F. 1985.

- 29.- Morilla, G.A.: Inmunidad del cerdo. Programa de acreditación de médicos veterinarios zootecnistas. SARH-AMVEC México, D.F. (1990).
- 30.- Nalbandon, V.A.: Fisiología de la Reproducción la. Ed. Acribia Zaragoza, España. 1969
- 31.- Olvera, M.J.: Evaluación de una vacuna experimental contra el Paramyxovirus del ojo azul en cerdos. Tesis de Licenciatura FMVZ-UNAM México, D.F. (1992)
- 32.- Pérez, P.F.: Lesiones histológicas en lechones inoculados experimentalmente con el paramixovirus del ojo azul. Tesis de Licenciatura. FMVZ-UNAM México, D.F. 1989
- 33.- Ramírez, H.G.: Detección virológica y serológica del Paramyxovirus del ojo azul en la rata. Tesis de Licenciatura. FMVZ-UNAM México, D.F. (1992)
- 34.- Rosales, E.F., Correa, G.P.: El síndrome del Ojo Azul. Técnica Pecuaria en México.; 3:101-116 (1989).
- 35.- SARH.: Manual de constatación de requerimientos mínimos para biológicos veterinarios en cerdos. Tecamac. México 1992.
- 36.- Sela, M.: The antigens. Academic Press Vol. IV N. Y. 1977.
- 37.- Stephano, H.A., Gay, G.M.: Síndrome de Ojo Azul en cerdos. Avances en enfermedades del cerdo. AMVEC. México, D.F. (1985)
- 38.- Stephano, H.A.: El Síndrome del Ojo Azul y la investigación. Síntesis Porcina 12: 14-24 (1986)
- 39.- Stephano, H.A. y Doporto, D.: Control y erradicación del síndrome de ojo azul. Síntesis Porcina 12:49-52 (1986)

- 40.- Stephano, H.A. y Gay, G.M.: Encefalitis, falla reproductiva y opacidad cornea, ojo azul. Síntesis Porcina 12: 26-39 (1986)
- 41.- Stephano, H.A., Gay, G.M.: El síndrome del Ojo Azul una nueva enfermedad en cerdos asociada a un Paramyxovirus. Vet. Méx.; 17:120-122 (1986).
- 42.- Stephano, H.A., Gay, G.M.: Encefalitis, Transtornos reproductivos y opacidad de la córnea en cerdos (Síndrome del Ojo Azul) asociados a un Paramyxovirus. Bstudio cronológico. Med. Vet.; 7-8:359-367 (1986)
- 43.- Stephano, H.A., Gay, G.M.: Síndrome del Ojo Azul en cerdos. Síntesis Porcina.; 5:14-24 (1986).
- 44.- Stephano, H.A., Gay, G.M., Ramírez, C.T.: Encephalomyelitis, Reproductive failure and corneal opacity (Blue eye) in pigs, associated with a Paramyxovirus infection. Veterinary Record; 122:6-10 (1988).
- 45.- Stephano, H.A., Hernández, D., Pérez, C., González, C.T., Ramírez, M.H. and Cervantes, A.: Boar infertility and testicular atrophy associated with blue eye paramyxovirus infection. Proceeding of International Pig Veterinary Society Congress. Nerthelands. 1992 IPVS Nerthelands (1992)
- 46.- Tizard, I.: Inmunología veterinaria. 3a ed. Interamericana. México, D.F. 1989
- 47.- Vazquez, R.F.: Ecología del tracto gastrointestinal. Porcira 159: 6-13 (1990)
- 48.- Vega, L.M.: Cinética de la absorción de las proteínas del calostro por los lechones recién nacidos. Avances en enfermedades del cerdo. AMVEC México, D.F. 1985