



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN

EVALUACIÓN CLÍNICA Y SEROLÓGICA DE VERRACOS  
VACUNADOS CONTRA LA ENFERMEDAD DEL OJO AZUL,  
MANTENIDOS EN CONDICIONES CONTROLADAS

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**  
P R E S E N T A :  
**MOISÉS FRANCISCO DÍAZ VÁZQUEZ**

ASESOR: MVZ., MA. EDUARDO PABLO CORREA GIRÓN

CUAUTITLÁN IZCALLI. EDO. DE MÉX. 2005



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 esta 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.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
 UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO  
 DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN  
 P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares  
 Jefe del Departamento de Exámenes  
 Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

Evaluación clínica y serológica de venacos vacunados contra la  
enfermedad del ojo azul, mantenidos en condiciones controladas.

que presenta el pasante: Misés Francisco Díaz Vázquez  
 con número de cuenta: 09130274-0 para obtener el título de :  
Médico Veterinario Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE  
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 31 de Mayo de 2005

PRESIDENTE M.A. Eduardo Pablo Correa Girón  
 VOCAL M.C. Raúl Arturo Mar Cruz  
 SECRETARIO MZ. Mario Alberto Velasco Jiménez  
 PRIMER SUPLENTE MZ. Patricia García Reyna  
 SEGUNDO SUPLENTE MZ. Román Javier Martínez Ramírez

## **Agradecimientos**

- Se agradece al Proyecto Paramixovirus porcino, y al CENID-M, INIFAP, por las facilidades otorgadas para la realización de esta Tesis.
- A la Fundación Guanajuato Produce A.C. y a la Unión Ganadera Regional de Porcicultores de Guanajuato, por su apoyo al Proyecto Paramixovirus porcino, y así mismo para la realización de esta Tesis.
- Se agradece al CONACYT, por haber sido becario del Sistema Nacional de Investigadores (SNI), asignado al MVZ, MA., Eduardo Pablo Correa Girón.
- Agradezco al MVZ., MA., Eduardo Pablo Correa Girón por haber sido mi profesor de licenciatura, Jefe y asesor de tesis; y por todas sus enseñanzas y consejos.
- A La MVZ, MC. Maria Antonia Coba Ayala, por toda su ayuda, dedicación, tiempo y paciencia, para llevar acabo con éxito este trabajo.
- MVZ. Mario Solís Hernández, por su ayuda, apoyo técnico y consejos para poder llevar acabo el trabajo de tesis.
- MVZ, MC. Dionicio Córdova López, por todo su tiempo y dedicación en el diseño del análisis estadístico, y su aplicación e interpretación en el trabajo de tesis, y por todas sus recomendaciones.
- MVZ, MC. Atalo Candido Martínez Lara por todo su apoyo, enseñanzas y por su experiencia para la realización de la tesis.

- A todos los miembros del jurado:  
MVZ, MA. Eduardo Pablo Correa Girón  
MVZ, MC. Raúl Arturo Mar Cruz  
MVZ. Mario Alberto Velasco Jiménez  
DR. Patricia García Reyna  
MVZ, Román Javier Martínez Ramírez.  
Por sus consejos y dedicación en el trabajo de tesis
- A mi padre, el Sr. Benito Díaz Luna y sobre todo a mi madre, Maria Elena Vázquez Carranza, a quienes la ilusión de su vida ha sido convertirme en una persona de provecho y me han dado los elementos para seguir adelante.  
A quienes nunca podré pagar todos sus desvelos ni aún con las riquezas más grandes del mundo.  
Porque gracias a su apoyo y consejos, he llegado a realizar la más grande de mis metas, la cual constituye: la herencia más valiosa que pudiera recibir.  
Deseo de todo corazón que mi triunfo profesional lo sientan como suyo.  
Con amor, admiración y respeto de su hijo Moy.
- A mi hermana Alejandra, con cariño te dedico este logro, y te admiro por todas las ganas que le has echado, ya que tus logros son dignos de admirarse.
- A mi hermano Gustavo esta tesis es parte tuya ya que siempre has luchado a mi lado; espero que entiendas que todo lo que te aconsejo es para tu bien, y espero que siempre me consideres más que tu hermano un amigo.

- Al Dr. Juan Arturo Rábago Izquierdo a quien le tengo un gran respeto y admiración, tanto en lo persona como en lo profesional. Por haberme enseñado parte de su experiencia y valiosos consejos, para ser un mejor profesionista y ser humano.
- Al Dr. José Antonio Jiménez Vázquez, porque además de ser mi Tío, somos amigos, y siempre ha estado conmigo en los buenos y en los malos momentos de mi vida. Gracias a todo tu apoyo y consejo, he llegado a realizar la más grande de mis metas.
- A Claus por todo lo que convivimos en la escuela ya que eres una de las pocas personas a la que considero una amiga sincera.
- Al LDG Felipe Vázquez Carranza, por su valiosa colaboración en la realización del diseño de las graficas para la tesis.
- A toda mi Familia, por sus ánimos y buenos deseos.
- A mis maestros, amigos y compañeros, por su estímulo y colaboración
- Sobre todo a tí señor, porque siempre estuviste con migo y mediste la oportunidad de llegar hasta aquí.

**GRACIAS**

## ÍNDICE

	Página
Resumen.....	1
Introducción.....	3
Objetivos.....	13
Hipótesis.....	13
Material y Métodos.....	13
Resultados.....	18
Discusión.....	47
Conclusiones.....	56
Referencias bibliográficas.....	59
Apéndice 1.....	65
Apéndice 2.....	68

## RESUMEN

Con el objeto de evaluar la inocuidad (presencia de signos clínicos), antigenicidad y protección de cerdos machos adultos vacunados con una vacuna experimental inactivada oleosa contra la enfermedad del ojo azul (EOA), se utilizaron 20 verracos adultos negativos a anticuerpos contra la EOA, alojados individualmente en diferentes unidades de aislamiento, formando cuatro grupos: a) **Grupo Control Negativo (GCN)** (n=5); b) **Grupo Vacunado no desafiado (GVND)** (n=5); c) **Grupo Vacunado y Desafiado (GVD)** (n=5); y d) **Grupo Control No Vacunado y Si Desafiado (GCNVD)** (n=5). El día 1 del experimento al **GCN** se le aplicaron 2 ml por vía intramuscular (IM) de un placebo (medio de cultivo, más restos celulares, con adyuvante); al **GVND** y al **GVD** se les aplicaron 2 ml de la vacuna vs. EOA del INIFAP, en la región crural posterior. El día 42 se desafiaron por vía intranasal (IN) los grupos **GVD** y **GCNVD**, utilizando 5 ml del *Rubulavirus porcino* de La Piedad Michoacán (RVP/LPM) con un título de  $10^6$  DICC<sub>50</sub> / ml. Las observaciones clínicas (medidas testiculares, temperatura rectal, y signos clínicos) se realizaron diariamente, hasta el final del experimento (día 122). La titulación de anticuerpos se realizó por la prueba de inhibición de la hemaglutinación (IH), con el suero sanguíneo obtenido los días 1, 4, 10, 14, 21, 28 y 35, posvacunación (PV); después del desafío (PD) las muestras se colectaron a los días 42, 45, 50, 52, 56, 63, 70, 77, 84, 91, 98, 105, 112, 119 y 122 del experimento. Los registros obtenidos de la temperatura se analizaron por medio de un análisis estadístico, mediante pruebas de T (comparación de medias entre grupos), con base en los días que resultaron con signos clínicos más significativos y continuando posteriormente hasta el día en que los cerdos de todos los grupos se encontraron numéricamente iguales (del día 1 al día 76). Después de la vacunación, del día 1 al 41 no se presentó inflamación testicular, ni otros signos clínicos, en ningún grupo. En el período PD: a) En uno (20%) de los cerdos del **GVD**, hubo ligera inflamación en los testículos y en la cola del epidídimo; b) Y en cinco (100 %) de los verracos del **GCNVD**, se observaron alteraciones testiculares (orquitis unilateral, o bilateral y posteriormente atrofia testicular); presencia de masas de

consistencia firme en la cola del epidídimo; a partir del día 12 PD hubo ligera fiebre, durante 3 ó 4 días; además de anorexia, apatía, eritema cutáneo, edema palpebral y secreción ocular; c) En el **GCN** no hubo signos clínicos; d) Y tampoco en el **GVND**. Los anticuerpos fueron detectados de los 14 días PV en el **GVND** y perduraron hasta los 122 días del experimento; y en el **GVD** a partir del día 28 PV y duraron hasta el final del experimento; en el **GCNVD**, estos aparecieron a los 10 días PD. El **GCN** nunca presentó anticuerpos. El análisis estadístico de la temperatura rectal determinó que en **GCN** el placebo no causó elevación de la temperatura, a las 24 horas después de su aplicación, ni durante todo el experimento. Asimismo en el **GVND** y en el **GVD** la vacuna no manifestó elevación de la temperatura, un día después de su aplicación, ni durante todo el período posvacunal. El virus de desafío no causó tampoco aumento de la temperatura, un día después de su aplicación, tanto en el **GVD** como en el **GCNVD**, pero en éste último grupo sí se manifestó fiebre a partir del día 12, y dicha alteración se pudo comprobar mediante el análisis estadístico. En conclusión en este experimento, después del desafío, en el **GVD** se evitaron en un 80% las alteraciones testiculares, al compararlo con el 100% de afectados en el **GCNVD**. Es indispensable validar este trabajo a nivel de campo.

## INTRODUCCIÓN

El síndrome del ojo azul (SOA) apareció por primera vez en México en La Piedad Michoacán, a principios de 1980<sup>1,2</sup>; y a mediados del mismo año, se observó otro brote de encefalitis en lechones de 4 a 10 días de edad, algunos con una opacidad corneal característica, de color azul turquesa, de los cuales se aisló un virus hemoaglutinante<sup>3</sup>. Stephano y cols. (1981) asociaron el SOA con un virus hemoaglutinante<sup>3,4</sup>; que después fue denominado Paramixovirus del ojo azul (POA).<sup>5</sup> Posteriormente, Moreno- López y cols. (1986) caracterizaron al virus y lo denominaron Paramixovirus porcino de La Piedad Michoacán (PMVP/LPM)<sup>6, 7, 8,9</sup>. Actualmente está clasificado dentro del orden *Mononegavirales*, familia *Paramixoviridae*, subfamilia *Paramixovirinae*, género *Rubulavirus*, especie porcino (*Rubulavirus porcino*) (RVP)<sup>10</sup>. El RVP es un virus RNA (-), envuelto,<sup>10, 11,12</sup> con propiedades hemoaglutinantes y formadoras de sincitios<sup>8,12</sup>. Al microscopio electrónico se observan viriones pleomórficos, que miden de 135 a 360 nm<sup>9, 10,12</sup> y están formados por una nucleocápside helicoidal, rodeada por una envoltura lipoproteica, con proyecciones de 8 a 12 nm (Figura 1)<sup>10</sup>.

El virus está constituido por seis proteínas estructurales; la nucleoproteína (NP), la fosfoproteína (P), la proteína de alto peso molecular (L); la proteína matriz (M); y dos glicoproteínas (gp): la hemoaglutinina-neuraminidasa (HN), y las proteínas de fusión (F)<sup>10</sup>. Las proteínas NP, P y L se encuentran asociadas al genoma viral. Las unidades de la NP, se unen mediante interacciones hidrofóbicas al ARN genómico, para dar origen a la nucleocápside; mientras que la proteína matriz (M) y las dos gp (HN y F), se localizan en la envoltura viral. Son transmembranales y su mayor parte se encuentra expuesta al exterior del virión, dejando un pequeño segmento intraviral, que hace contacto con la proteína M, que se ubica en la parte interna de la membrana<sup>10,11</sup>. La secuencia y clonación de los genes de las proteínas M, HN, P, F y L mostraron que el LPM está estrechamente relacionado a el virus de la paperas y al el virus 5 del simio. La replicación del virus produce efecto citopático (ECP) en una amplia variedad de células y aglutina eritrocitos de mamíferos y aves (Figura 2)<sup>7, 8, 9,12, 31</sup>.

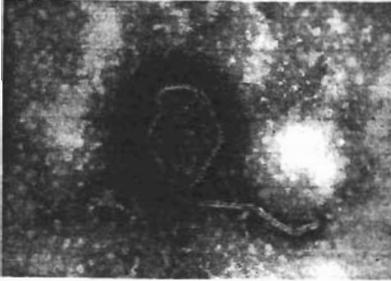


Figura 1. *Rubulavirus porcino* (LPM) visto al microscopio electrónico <sup>7,9</sup>.



Figura 2. Efecto citopático producido por el *Rubulavirus porcino* en células PK 15. (Foto amablemente proporcionada por Martínez *et al* <sup>33</sup>, del Proyecto Paramixovirus porcino, del CENID-MA, INIFAP).

**Manifestaciones clínicas.-** Los cerdos lactantes, entre los 2 y los 15 días de edad; son más susceptibles; y las manifestaciones clínicas son fiebre, pelo hirsuto, eritema cutáneo, lagrimeo, edema palpebral, párpados pegados, conjuntivitis, lomo arqueado, debilidad y depresión. Los signos nerviosos que se observan, se presentan en forma progresiva, manifestándose hiperexcitabilidad, incoordinación, rigidez, temores musculares, movimientos involuntarios, adopción de posiciones anormales, desplazamiento en círculos, y pupila dilatada. En el 1 al 10 % de los lechones se presenta la opacidad de la cornea unilateral o bilateral (Figura 3), y en ocasiones nistagmus, postración y muerte <sup>6, 8, 9, 13, 14</sup>.



Figura 3. Opacidad de la cornea transparente <sup>9</sup>.

Los cerdos de más de 30 días, ocasionalmente muestran ligeros signos nerviosos o mueren; y cuando llegan a presentarlos hay: anorexia, depresión, incoordinación, marcha en círculos y movimientos pendulares de la cabeza, entre otros. Hay conjuntivitis y opacidad de la cornea en el 1 al 4 % de los cerdos; se ha observado retraso en el crecimiento y baja en el consumo de alimento<sup>8, 9, 12, 13, 14, 15</sup>. En estudios de transmisión experimental se observaron también, signos nerviosos, tales como: una ligera incoordinación, lomo arqueado, además de signos respiratorios severos, estertores y respiración abdominal; conjuntivitis, lagrimeo, diarrea y temperatura rectal entre 40.1 y 40.4 °C<sup>8</sup>.

En los cerdos adultos las manifestaciones clínicas casi se limitan al aparato reproductor; presentándose en las hembras gestantes: mortinatos, momias, regreso al estro (repetidoras), algunos abortos y opacidad de la cornea<sup>8, 12, 13</sup>; también con forme a los hallazgos observados, el efecto en el aparato reproductor dependerá de la etapa de la gestación en que ocurre la infección. Sugiriendo que cuando ésta ocurre al inicio de la gestación se produce muerte embrionaria, reabsorción y retorno al estro; cuando ocurre a mediados de la gestación se produce muerte fetal con momificación; y cuando sucede al final, ocasiona mortinatos y/o infección de lechones después del nacimiento. Cuando la cerda se infecta con tiempo suficiente para desarrollar anticuerpos, confiere inmunidad pasiva a los lechones a través del calostro. Al parecer, el aborto no ha sido característico de la enfermedad<sup>8</sup>.

Los verracos, al igual que otros animales adultos, generalmente no muestran signos clínicos, pero se ha observado opacidad corneal y moderada anorexia. La evaluación del semen en los hatos infectados demostró que el 29-73% de los verracos muestran temporal o permanentemente infertilidad, con una disminución en la concentración, incremento en las anormalidades y una disminución en la motilidad y viabilidad de los espermatozoides.

En algunos verracos hay azoospermia, y el eyaculado se presenta de color claro semejante al agua de coco. Algunos verracos presentan testículos hinchados. El testículo y el epidídimo llegan a estar, turgentes con marcado edema; más tarde

algunos desarrollan una textura granular y muchos se atrofian (esto es generalmente unilateral) o llegan a ser blandos y flácidos, con o sin epididimitis granular. Los verracos con severas lesiones pierden la libido.<sup>11, 12, 32</sup>

En 1989 se realizó un trabajo acerca de un brote de la EOA en una granja de ciclo completo, reportando las siguientes manifestaciones clínicas: fiebre de 40 °C, anorexia, estreñimiento, opacidad de la cornea unilateral, deterioro gradual de la condición física; orquitis aguda unilateral (derecha o izquierda), o bilateral, de curso muy rápido (48 hrs), inflamación y atrofia irreversible del testículo, reduciendo su tamaño a sólo un 25%, en un lapso de siete días; de consistencia extremadamente flácida, con o sin epididimitis bilateral, a nivel de cabeza, con formaciones quísticas y de consistencia muy firme (fácilmente detectable a la palpación). Durante la fase aguda de la orquitis, el semen de un verraco presentó un 10% de mortalidad espermática progresiva, espermatozoides con anomalías morfológicas, sangre y leucocitos en el semen, oligospermia, azoospermia, y un deterioro progresivo en la libido.<sup>16</sup>

En algunos casos, después de la inoculación experimental de los cerdos machos adultos con el RVP, se observó lo siguiente: anorexia, tos frecuente y conjuntivitis por el 3er día posinfección (PI). La motilidad espermática y la concentración del semen disminuyó a niveles extremadamente bajos después del día 18 PI, claramente observada del día 21 al 30 PI. Los animales infectados mostraron evidencia de inflamación unilateral o bilateral, en la región testicular y del epidídimo, aproximadamente a los 15 días PI. Esta inflamación, la cual fue más severa sobre la cabeza del epidídimo, fue máxima entre los días 15 y 19 PI; pero subsecuentemente disminuyó y desapareció por el día 25 PI. La inflamación fue más severa en el testículo y epidídimo derecho, que en el izquierdo; y posteriormente hubo atrofia testicular derecha, a partir del día 30 PI; también hubo opacidad corneal unilateral a partir del día 30. La severa naturaleza de la lesión testicular y del epidídimo (nódulos en la cabeza del epidídimo, atrofia y hemorragia testicular), sugiere efectos permanentes sobre la fertilidad.<sup>15</sup>

Por otra parte, se realizó un trabajo experimental en la UNAM, el cual consistió en inocular por vía intranasal (IN) e intramuscular (IM) con el RVP, a cerdos machos de la raza Pelón Mexicano, mayores de 10 meses; los cerdos mostraron los siguientes signos y lesiones: fiebre, depresión y anorexia, después de las 24 horas de la inoculación, fenómeno que ya no se observó a partir de los 15 días posinoculación. La opacidad de la cornea se presentó al séptimo día PI, en uno de ellos; hubo edematización escrotal entre el séptimo y décimo días, disminución o aumento del tamaño de los testículos y consistencia rígida a la palpación de la cola del epidídimo. Los cambios en el volumen testicular fueron más evidentes en el lado izquierdo. Las lesiones macroscópicas encontradas a la necropsia, consistieron en edema de la cornea; diferencias en el tamaño testicular y nódulos granulomatosos en la cabeza de los epidídimos, edema escrotal; congestión en meninges y superficie del encéfalo, y hemorragias en meninges y cerebro, congestión generalizada de los órganos viscerales, congestión en las tonsilas y hemorragias petequiales en riñones. Los resultados de la histopatología indicaron que hubo cambios degenerativos e inflamatorios en varios órganos; a los 20, 30 y 45 días de la inoculación, se encontraron en la cabeza del epidídimo varios focos, de diferente tamaño, compuestos en la parte central por necrosis licuefactiva y rodeados por tejido conjuntivo fibroso e infiltrado mixto de células inflamatorias; predominantemente linfocitos, neutrófilos con células plasmáticas y células gigantes multinucleadas. Estos signos y lesiones que se encontraron en el aparato reproductivo, tales como la atrofia testicular y los granulomas en el epidídimo, pueden justificar la baja fertilidad que describen otros estudios. Y constituyen la evidencia de que tanto el testículo como el epidídimo, son órganos blanco para el virus; así como la ausencia de mortalidad, cuando los cerdos rebasan los 30 o 45 días de edad, tal como resultó con los cerdos pelones mexicanos.<sup>29</sup>

En un brote reportado en San Juan de los Lagos, Jalisco, en una granja de ciclo completo, se llevo a cabo un examen andrológico completo a 31 animales, después de seis meses de haberse iniciado el brote; habiéndose diagnosticado la enfermedad clínicamente y por laboratorio, (inmunofluorescencia). Se tomaron

medidas con un vernier a los testículos y epidídimo, tanto de cabeza como de la cola. Y se evaluó la forma, consistencia y superficie de éstos.

En 11 animales, se encontró que 6 presentaron aumento del tamaño del testículo derecho y 5 del izquierdo. La afección más común, de la cabeza del epidídimo fue la consistencia fibrosa, seguida de aumento de tamaño. Veintiuno presentaron consistencia fibrosa: izquierda el 57 %; derecha el 19 % y bilateral el 25 %; Con aumento de tamaño de la cabeza del epidídimo; hubo 6 verracos: del epidídimo del lado izquierdo 33 %; y del derecho 50 %; y bilateral 16 %. A nivel de cola del epidídimo se encontraron afectados 6 animales (10.90 % del total) con esta estructura poco palpable y blanda; 50 % de estos de forma bilateral, 33.3 % del lado derecho y 16.6 % del lado izquierdo.

Se menciona que los testículos deben ser alargados y simétricos. En un semental reproductivamente maduro y sano miden de 10 a 15 centímetros de largo y de 6 a 7 centímetros de ancho. La cabeza del epidídimo se encuentra situada en el polo ventral del testículo y debe ser de consistencia firme como la del testículo, así como el cuerpo del epidídimo. La cola del epidídimo se sitúa en el polo dorsal del testículo; es de consistencia nodular haciendo numerosas circunvoluciones en esta región. El diámetro de la cola del epidídimo mide de 4 a 5 centímetros en un cerdo adulto<sup>34</sup>.

**Diseminación viral.**- El RVP puede ser diseminado mecánicamente por personas, vehículos y posiblemente por aves y el viento<sup>8,12</sup>. Los animales afectados subclínicamente son la fuente principal de la infección por el RVP. El virus aparentemente se disemina al ponerse en contacto (nariz con nariz), los infectados con los susceptibles<sup>12</sup>. La transmisión por monta directa no se ha demostrado, aunque se ha podido aislar al RVP a partir de semen<sup>34</sup>. De acuerdo a los trabajos llevados a cabo para determinar la patogenia del RVP, el virus se disemina dentro del SNC, utilizando las vías de conducción del estímulo olfatorio (bulbo, tracto y corteza olfatoria del bulbo piriforme), y el día 7 PI llega a las estructuras mesencefálicas: hipocampo, tálamo e hipotálamo<sup>17, 18</sup>.

Estudios recientes han demostrado que las moléculas de ácido neuramínico, juegan un papel primordial en el tropismo tisular, manifestado por el RVP, ya que se identificó una correlación directa entre la expresión de Neu5Ac $\alpha$ 2,3Gal en un tejido sano y la detección del antígeno viral en los animales infectados. En el SNC de cerdos neonatos la mayor expresión de Neu5Ac $\alpha$ 2,3Gal se localizó en cerebelo, médula oblonga y tálamo; así como en las estructuras involucradas en la conducción del estímulo olfatorio, nervio, bulbo y tracto olfatorio, corteza del lóbulo piriforme e hipocampo. En contraste, se observó que estas mismas estructuras del SNC, de cerdos adultos, casi no conservan Neu5Ac $\alpha$ 2,3Gal y en cambio, expresan abundantemente su isómero Neu5Ac $\alpha$ 2,6Gal, aumentando también la expresión de ácidos siálicos 9-O-acetilados. Además, al analizar los cortes histológicos del sistema reproductor, se encontró que los residuos de Neu5Ac $\alpha$ 2,3Gal son más abundantes en testículos y epididimo de cerdos adultos, que en cerdos neonatos. Estos resultados indican que el tropismo tisular y la susceptibilidad a la infección viral, son determinados por la expresión de Neu5Ac $\alpha$ 2,3Gal, en un tejido. En el caso de los cerdos adultos, al parecer la falta de Neu5Ac $\alpha$ 2,3Gal en las terminaciones sensoriales de la mucosa olfatoria, no permite la adsorción del *Rubulavirus* a las células nerviosas, debido a que la glicoproteína HN del virus no interactúa con las moléculas del Neu5Ac $\alpha$ 2,6Gal; esto evita el paso del virus de la cavidad nasal hacia el tejido encefálico. Aunado a esto, la presencia de ácidos siálicos 9-O-acetilados, resistentes a la actividad neuraminidasa del virus, tal vez evita que se eliminen los ácidos siálicos que interfieren con el proceso de fusión de las membranas viral y celular, por lo que el virus no logra penetrar a las células nerviosas adultas. En conjunto los resultados anteriores indican que la molécula Neu5Ac $\alpha$ 2,3Gal es el componente primordial del receptor celular del RVP y que los cambios en su expresión determinan la susceptibilidad o resistencia de un tejido, a la infección viral <sup>11</sup>.

**Especies susceptibles.-** Hasta la fecha el único hospedador natural de la enfermedad del ojo azul es el cerdo, y no se ha encontrado que la enfermedad afecte a otras especies animales, incluyendo al hombre <sup>8, 22, 23</sup>. En otros trabajos

se han detectado anticuerpos por la técnica de inhibición de la hemoaglutinación (IH) tanto en cerdos reproductores como en ratas capturadas dentro de las mismas granjas, con títulos de 1:20<sup>8</sup>. Estudios de laboratorio han demostrado que el gato doméstico tiene la capacidad de seroconvertir ante la inoculación IN del RVP, sin ser necesariamente un portador; por la prueba de IH se les detectaron títulos de 1:6 y 1:192, y por seroneutralización (SN) títulos de 1:4 y 1:64; la importancia de esta observación es conocer que la población felina tiene amplia distribución dentro de las granjas porcinas, principalmente por ser usada como control de roedores<sup>30</sup>. Al igual se han encontrado que los perros de granjas afectadas con el RVP, después de ser alimentados con carne infectada, no desarrollaron signos, ni anticuerpos. También se inoculó al Pecari de Collar, y no desarrollo signos, pero si diseminó al virus, actuando como portador<sup>34</sup>.

**Diagnóstico.-** Los signos clásicos de la enfermedad, tales como: encefalitis, opacidad de la cornea (en las diferentes etapas de la línea de producción) y falla reproductiva en la cerda; orquitis y epididimitis en el verraco, dan bases para el establecimiento de un diagnóstico clínico presuncional de la EOA<sup>12,19</sup>. Sin embargo, para apoyar el diagnóstico de la EOA es indispensable realizar estudios virológicos, para demostrar la presencia del virus<sup>12,19</sup>; tales como el aislamiento viral, a partir de diferentes tejidos como el encéfalo (principalmente), tonsilas, pulmón<sup>8</sup>, así como también del testículo, epidídimo, próstata, vesícula seminal y glándulas bulbouretrales<sup>12</sup>. También es indispensable la identificación del virus mediante pruebas serológicas (de anticuerpos fluorescentes o de virus neutralización)<sup>8,12</sup>. La presencia de anticuerpos contra el RVP en el animal, es un punto fundamental, ya que se puede identificar a los animales seropositivos, previamente infectados.

Para el diagnóstico serológico de la EOA se han utilizado las técnicas de IH, SN y ensayo inmunoabsorbente ligado a una enzima (ELISA), siendo la prueba de IH la más usada, por ser la más rápida, económica y sencilla (Figura 4)<sup>5, 12, 19,20</sup>. El diagnóstico con base en las lesiones histológicas, tales como encefalitis no

supurativa, uveítis anterior, queratitis, orquitis, y epididimitis, y la presencia de cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos en las neuronas y epitelio corneal, apoyan el diagnóstico <sup>10</sup>.

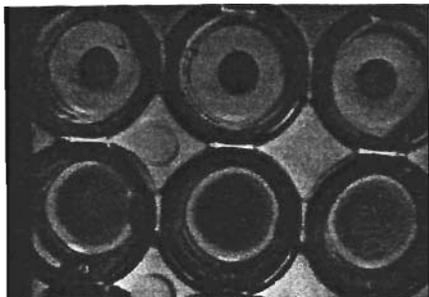


Figura 4. Prueba de inhibición de la hemoaglutinación (IH) en placa; pozos superiores: IH positiva; pozos inferiores: IH negativa. (Fotografía amablemente proporcionada por Martínez *et al* <sup>33</sup>, del Proyecto *Paramixovirus porcino*, CENID-MA, INIFAP).

**Diagnóstico diferencial.-** Se debe diferenciar de la enfermedad de Aujeszky, que es con la enfermedad que tiene mayor similitud clínica y patológica, ya que ésta afecta también al sistema nervioso central, pulmón y aparato reproductor; pero esta enfermedad no solo afecta al cerdo, sino a una variedad de especies, ocasionando la muerte en perros, gatos y ratas, que consumen carne de cerdos que sufrieron de esta enfermedad. El aborto es característico y la opacidad de la cornea no ha sido observada en casos naturales de la infección por el virus de la enfermedad de Aujeszky; las lesiones son de tipo necrótico, además de que produce cuerpos de inclusión intranucleares<sup>34</sup>; es producida por el herpes virus suis 1, que no produce opacidad de la cornea.

También de la encefalitis por virus hemoaglutinante, la cual sólo afecta a lechones con dos cuadros clínicos, uno encefalítico y otro digestivo, con vómito y desnutrición; hay ceguera, pero sin opacidad de la cornea. Además de que este virus no hemoaglutina eritrocitos de caballo, y de que el sincitio solo lo forma en monocapas de riñón primario de cerdo; no tiene neuraminidasa, no hay elución y tiene morfología diferente<sup>8</sup>.

Así como del SMEDI y parvovirus que también pueden causar problemas reproductivos en las hembras, deficiencia de vitamina A por la opacidad de la

córnea, deficiencia de vitamina B2 que causa opacidad del cristalino, más no de la córnea<sup>34</sup>, fiebre porcina clásica, tremor congénito, enterovirus porcino, y enfermedad del edema, entre otros, por los signos nerviosos en los lechones; También debemos considerar otras enfermedades, tales como: estreptococia, encefalitis japonesa, leptospirosis, brucelosis, PRRS y de Influenza porcina, por los problemas respiratorios<sup>8, 34</sup>.

**Justificación.**- La EOA es uno de los cinco problemas infecciosos virales más importantes de los cerdos, por las pérdidas económicas que causan a la porcicultura mexicana<sup>21</sup>; por gastos en medicamentos, mortalidad de lechones y baja fertilidad, que inciden negativamente en los costos de producción; esto último afecta los márgenes de utilidad de las empresas afectadas<sup>25,29</sup>. Desde su aparición en 1980<sup>1, 2, 3</sup>, ha sido un problema enzoótico de difícil control, y su difusión en 1991 abarcaba 16 estados del país<sup>19</sup>. Los muestreos serológicos llevados a cabo en México, han determinado que existe la presencia de anticuerpos contra el RVP en los cerdos de los estados de Michoacán, Jalisco, Guanajuato, México, Nuevo León, Hidalgo, Tlaxcala, Querétaro, Tabasco, Yucatán, Tamaulipas y Puebla, además del Distrito Federal<sup>5</sup>. En 1991, se consideró que los estados del Altiplano eran la fuente principal de la infección;<sup>5</sup> sin embargo, los estados del Bajío de México continúan siendo la principal zona de infección y diseminación de la EOA hacia los estados libres de la enfermedad. La falta de medidas de control favorece la amplia difusión de la enfermedad, pues no se ha controlado la movilización de animales infectados o portadores<sup>5, 19,20</sup>, esta movilización se da principalmente hacia los centros de consumo mejor cotizados. Como se mencionó anteriormente la EOA es importante y la utilización de vacunas comerciales y el desarrollo y evaluación de nuevas vacunas, es indispensable y justificado, para llevar a cabo su control y prevención<sup>24</sup>. En un principio la vacuna de elección deberá ser de tipo inactivada, ya que la producción de vacunas atenuadas implica llevar a cabo previamente un gran número de complejas investigaciones de largo plazo que certifiquen su inocuidad<sup>25</sup>.

## OBJETIVOS

Evaluar la inocuidad, protección y signos clínicos de los verracos vacunados con la vacuna inactivada experimental oleosa contra la enfermedad del ojo azul (EOA), del INIFAP.

Evaluar la respuesta serológica de los verracos vacunados con la vacuna antes mencionada, mediante la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (IH).

## HIPÓTESIS

Al aplicar una vacuna inactivada experimental contra la EOA en verracos adultos, la vacuna será inocua y dará una adecuada protección a los verracos vacunados, ante el desafío con virus virulento de la EOA.

## MATERIAL Y MÉTODOS

**VACUNA.-** Se usó la vacuna contra la EOA (VAC-EOA- INIFAP), con el número de lote: 2003-1 (14-01-03), que es una vacuna experimental oleosa inactivada con Cobalto 60 (Co60) a dosis de 2.5 Megarrads (Mrad), preparada en el Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Microbiología Animal (CENID-MA), INIFAP; elaborada de acuerdo con el procedimiento descrito por Martínez y cols. (2000)<sup>26</sup>. Se aplicó la vacuna VAC-EOA-INIFAP, a los cerdos de los grupos **Grupo vacunado no desafiado (GVND)** y **Grupo vacunado y desafiado (GVD)**, después de 3 días de observación y de haber verificado que los animales se encontraban clínicamente sanos (Día 1). La dosis utilizada fue de 2 ml por vía IM, en la región crural y/o glútea, de cada animal.

**INÓCULO PARA EL GRUPO CONTROL NEGATIVO (GCN).-** Para inocular este grupo (descrito en el Cuadro 1), se preparon monocapas de células de riñón de mono verde africano (VERO), no infectadas, con su medio de cultivo, las cuales fueron congeladas y descongeladas para romperlas y se les adicionó el adyuvante oleoso, usado en la elaboración de la vacuna, se aplicaron 2 ml, por vía IM, en la región crural y/o glútea de cada cerdo.

**VIRUS DE DESAFÍO.-** El virus que se utilizó, para el desafío fue el *Rubulavirus porcino* de La Piedad Michoacán (LPM)<sup>6,7</sup>, el cual se tituló en células VERO. El punto final se determinó por la presencia de ECP, y los cálculos se hicieron en base al método de Reed and Muench<sup>27</sup>. El virus de desafío empleado tenía un título de  $10^6$ /DICC<sub>50</sub>/ml; se inocularon 5 ml, por vía IN, a cada verraco de los grupos GVD y **Grupo control no vacunado y si desafiado (GCNVD)**

**ANIMALES DE PRUEBA.-** Para evaluar la vacuna se usaron veinte cerdos machos adultos sin castrar, mayores de doce meses, con un peso entre 180 y 250 Kg., clínicamente sanos, serológicamente negativos a la EOA y procedentes de una granja libre de esta enfermedad.

**FORMACIÓN DE LOS GRUPOS Y TRATAMIENTOS.-** Los animales fueron instalados en sus sitios correspondientes (unidades de aislamiento), cuatro días antes de la iniciación del estudio; y todos se identificaron con un sistema permanente de marcaje (aretes).

Con los veinte animales se integraron cuatro grupos de cerdos, quedando cada grupo con cinco individuos, los cuales fueron elegidos al azar. Los cerdos del Grupo No.1, **GCN**, fueron inoculados el día 1 del experimento con 2 ml/IM, de los restos celulares mezclados con adyuvante oleoso. Los del Grupo No. 2, **GVND**, recibieron 2ml/ IM de la vacuna inactivada experimental oleosa vs. la EOA del INIFAP, en la región crural posterior, el día 1 del experimento. A los del Grupo No. 3, **GVD**, el día 1 del experimento se les aplicaron 2ml/ IM, de la vacuna vs. la EOA del INIFAP, en la región crural posterior. Y posteriormente fueron desafiados (el día 42 del experimento), con el RVP/LPM, utilizando una dosis de 5 ml/ por vía IN con un título de  $10^6$  / DICC<sub>50</sub> /ml. Los animales del Grupo No. 4, **GCNVD**, se desafiaron con el RVP/LPM, el día 42 del experimento, utilizando la misma dosis que en el Grupo No.3 (Cuadro 1).

**OBSERVACIONES CLÍNICAS.-** Se realizó la observación de todos los cerdos, de los cuatro grupos, una vez por día, durante un período de 122 días y de manera rutinaria se evaluaron primero las manifestaciones clínicas y en segundo término, se determinó la temperatura rectal; diariamente se tomaron las medidas testiculares, tanto del ancho como del largo, de todos los cerdos y se anotaron en hojas de registro, diseñadas para tal efecto.

Se tomaron fotografías periódicas de los testículos de los animales, de los diferentes grupos, para hacer las comparaciones clínico patológicas, entre grupos.

**SEROLOGÍA.-** Se realizaron pruebas de IH para detectar la presencia de anticuerpos contra la EOA, de acuerdo a la técnica estandarizada por Martínez y cols. (1997)<sup>28</sup> (Apéndice 1), para confirmar, mediante el diagnóstico serológico, la infección por el virus de la enfermedad del ojo azul. Se colectaron muestras sanguíneas de todos los cerdos, y se separó el suero. Inicialmente esto se realizó a los tres días antes de la vacunación. Después de vacunar, se colectaron muestras a los 1, 4, 10, 14, 21, 28 y 35 días. Después del desafío, a los 42, 45, 50, 52, 56, 63, 70, 77, 84, 91, 98, 105, 112, 119 y 122 días del experimento.

Para realizar la prueba de IH, se muestrearon 8 ml de sangre de cada uno de los cerdos; se vertieron en tubos vacutainer sin anticoagulante, anotando en la etiqueta el número del cerdo y la fecha de la toma de la muestra. La sangre que se obtuvo, se dejó coagular a temperatura ambiente, para posteriormente separar el suero sanguíneo, del coágulo, por centrifugación, durante 15 a 30 min., a la fuerza G adecuada para separar el suero sanguíneo sin que se produjera hemólisis. Con el suero se realizaron las pruebas de IH, empleando glóbulos rojos de pollo al 0.5 %, suspendidos en solución salina, y 4 unidades hemohaglutinantes (UHA) del antígeno.

**ANÁLISIS ESTADÍSTICO.**- Los resultados de las pruebas serológicas (títulos de anticuerpos), y de las manifestaciones clínicas (temperaturas rectales y volumen testicular), fueron tomados en cuenta para analizar la posible diferencia entre los grupos experimentales. En el análisis estadístico realizado se evaluaron los promedios, porcentajes y diferencias de medias, entre los cuatro grupos (**GCN, GVND, GVD, GCNVD**), con base en los días que resultaron más significativos y posteriormente hasta el día en que los cerdos de todos los grupos se encontraron numéricamente iguales. Debido a que a partir de este experimento, se realizaron otros estudios independientes de histopatología, los grupos ya no fueron numéricamente iguales, desde que se castró un cerdo (escogido al azar) del **GCN** el día 52 del experimento y posteriormente los días, 81,92,113,122. Mientras que en cada uno de los 3 grupos restantes (**GVND, GVD, GCNVD**) se castró un cerdo de cada grupo, a partir del día 76; continuando con las castraciones los días, 97, 93, 107, 108, 113,122.

Por lo tanto el estudio estadístico se realizó desde el día 1 del experimento hasta el día 76, en que los grupos **GVND, GVD, GCNVD**, fueron numéricamente iguales, con 5 individuos cada uno; aclarando que el **GCN**, el día 52 del experimento, se analizó con 4 cerdos, por que ya se había castrado un animal. A partir del día 76 y hasta el final del experimento, los resultados fueron descritos con base en las observaciones clínicas realizadas, sin análisis estadístico.

**Cuadro 1. RESUMEN DEL DISEÑO EXPERIMENTAL:**

Grupo // No. de animales	Toma de muestras sanguíneas 3 días antes del experimento *	Tratamiento día 1		Toma de muestras sanguíneas los días (1, 4, 10, 14, 21, 28, 35)		Toma de muestras sanguíneas los días (42, 45, 60, 52, 56, 63, 70, 77, 84, 91, 98, 105, 112, 119 y 122)	Día 122 fin del experimento
CONTROL NEGATIVO / 5	*	RESTOS DE CELULAS (VERO) CON ADYUVANTE OCD, DTD.	2ml / IM	OCD, DTD.	NO OCD, DTD.	OCD, DTD.	SACRIFICIO DE LOS CERDOS
VACUNADO NO DESAFIADO / 5	*	VAC * - EOA - INIFAP OCD, DTD.		OCD, DTD.	NO OCD, DTD.	OCD, DTD.	SACRIFICIO DE LOS CERDOS
VACUNADO DESAFIADO / 5	*	VAC * - EOA - INIFAP OCD, DTD.		OCD, DTD.	RVP - 5 ML (IN) / 10 <sup>8</sup> DICC <sub>50</sub> / ml OCD, DTD.	OCD, DTD.	SACRIFICIO DE LOS CERDOS
CONTROL NO VACUNADO SI DESAFIADO / 5	*	NINGUNO OCD, DTD.	NO	OCD, DTD.	RVP - 5 ML (IN) / 10 <sup>8</sup> DICC <sub>50</sub> / ml OCD, DTD.	OCD, DTD	SACRIFICIO DE LOS CERDOS

\* Vacuna vs. la EOA del INIFAP lote 2003 - 01 (elaborado el 14 de enero de 2003).

OCD Observaciones clínicas diarias

DTD Dimensiones testiculares diarias.

## RESULTADOS

### OBSERVACIONES CLÍNICAS

**GRUPO CONTROL NEGATIVO.-** El GCN no demostró ningún cambio clínico aparente, en los días posteriores a la aplicación del placebo; tampoco se observó reacción inflamatoria en el sitio de aplicación. Durante el resto del experimento, todos los animales se mantuvieron sanos. En los testículos tampoco se observó ningún cambio en el tamaño y forma de los mismos (Figuras 5, 6 y 7 y Gráfica 1). La temperatura rectal siempre se mantuvo dentro de los rangos normales (Gráfica 2).



**Fig. 5.- Grupo Control Negativo.**  
**Testículos normales.**  
**Día 1 del experimento**  
**(día de la aplicación del placebo).**

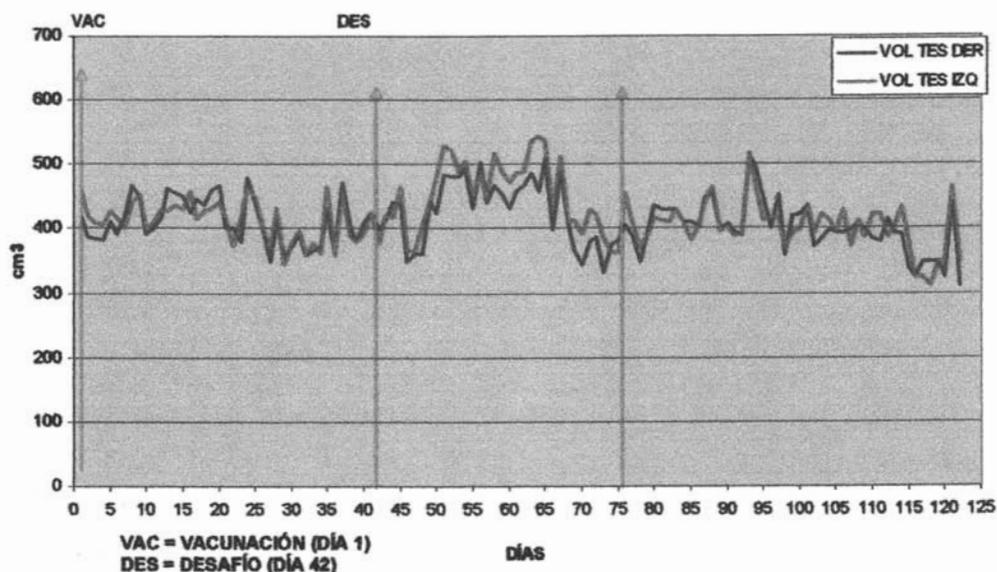


**Fig. 6.- Grupo Control Negativo.**  
**Testículos normales.**  
**Día 20 del experimento**  
**(día 20 de la aplicación del placebo).**

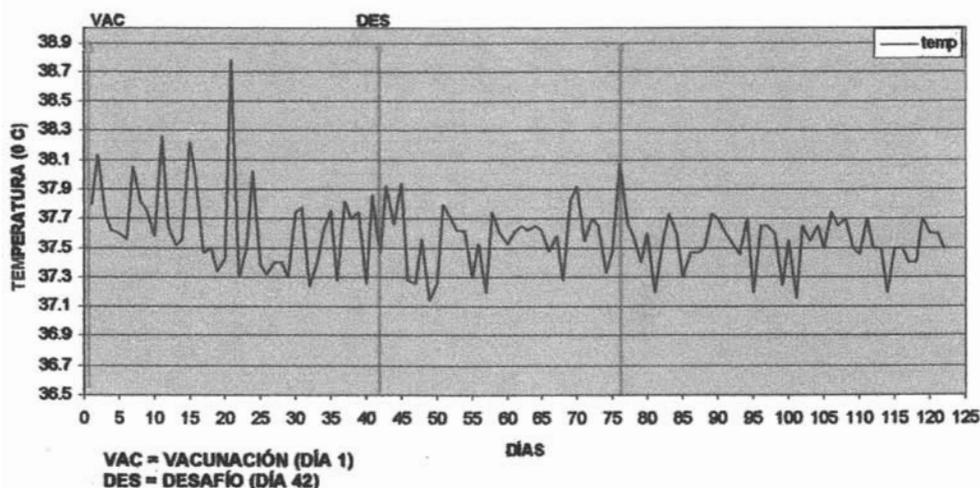


**Fig. 7.- Grupo Control Negativo.**  
**Testículos normales.**  
**Día 53 del experimento**  
**(día 53 de la aplicación del placebo).**

**GRÁFICA 1.- PROMEDIOVOLUMEN TESTICULAR DEL GRUPO CONTROL NEGATIVO DURANTE EL EXPERIMENTO**

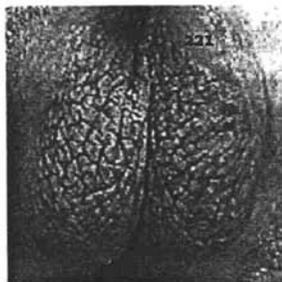


**GRÁFICA 2.- PROMEDIO DE LAS TEMPERATURAS RECTALES DEL GRUPO CONTROL NEGATIVO, DURANTE EL EXPERIMENTO**

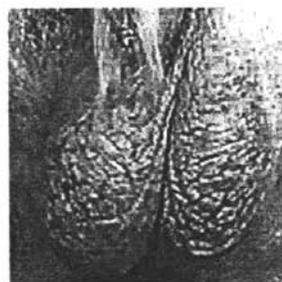


**GRUPO VACUNADO NO DESAFIADO.** – En el **GVND** no se presentó ninguna reacción inflamatoria en el sitio de aplicación de la vacuna; tampoco hubo signología clínica de la EOA, los días subsiguientes a la aplicación de la VAC-EOA-INIFAP; ni durante todo el transcurso del experimento. Al igual que el **GCN**, los cinco animales (100%) se mantuvieron sanos, con apetito normal, y sin cambios en su condición corporal y estado físico en general. No se detectaron variaciones de importancia en el volumen testicular (Figuras 8, 9 y 10 y Gráfica 3). La temperatura rectal se mantuvo normal (Gráfica 4).

#### **PERÍODO POSVACUNACIÓN (PV)**



**Fig. 8.- Grupo Vacunado no Desafiado.**  
**Testículos normales.**  
**Día 1 del experimento**  
**(día de la vacunación).**

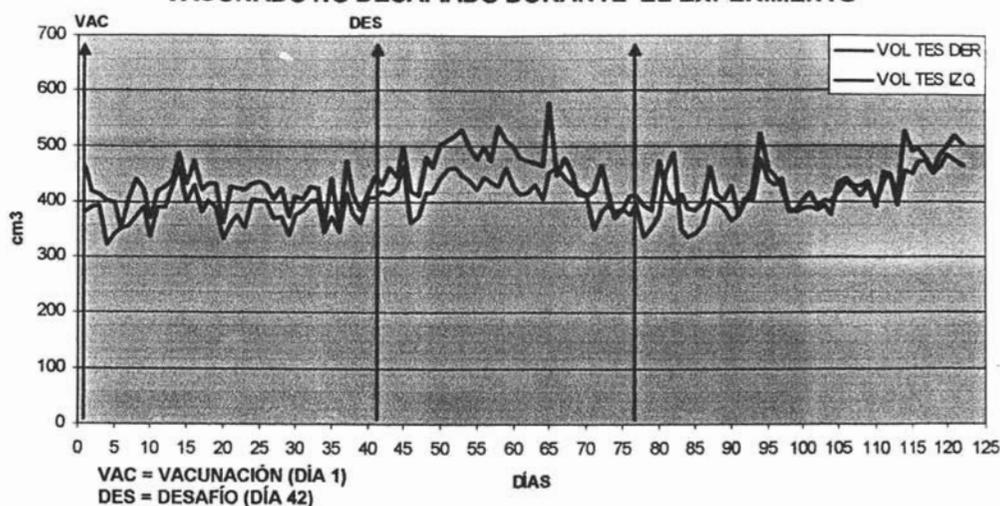


**Fig. 9.- Grupo Vacunado no Desafiado.**  
**Testículos normales.**  
**Día 20 del experimento**  
**(día 20 posvacunación).**

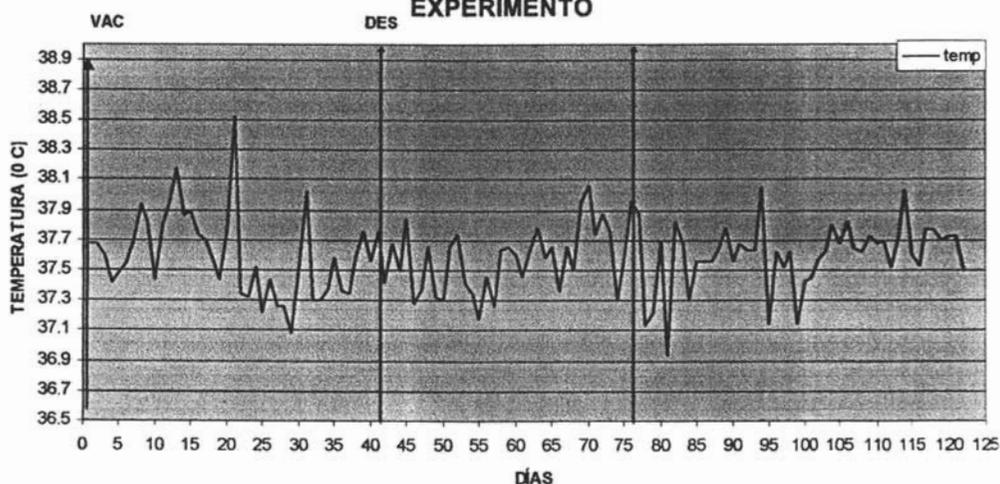


**Fig. 10.- Grupo Vacunado no Desafiado.**  
**Testículos normales.**  
**Día 53 del experimento**  
**(día 53 posvacunación).**

**GRÁFICA 3.- PROMEDIO DEL VOLUMEN TESTICULAR DEL GRUPO VACUNADO NO DESAFIADO DURANTE EL EXPERIMENTO**



**GRÁFICA 4.- PROMEDIO DE LAS TEMPERATURAS RECTALES DEL GRUPO VACUNADO NO DESAFIADO, DURANTE EL EXPERIMENTO**



**GRUPO VACUNADO Y DESAFIADO.-** Los cinco animales se mantuvieron sanos, sin signos de la EOA, en el período PV mostrando un estado clínico de salud, apetito, temperamento y comportamiento normal hasta el día 40 (Figura 11,12). Posteriormente, al desafiar al grupo el día 41 con el virus **LPM**, los cerdos (100%) se mantuvieron normales, sin signología de la EOA, hasta el día 15 PD, cuando únicamente uno de los cinco animales (20%), presentó una ligera inflamación, por un período de 11 días, en la cola del epidídimo y parénquima testicular de ambos órganos (Figura 13, 14); que fue disminuyendo, sin volver a registrarse inflamación; tampoco hubo atrofia testicular (Figura 15 y Gráfica 5). Este cerdo nunca registró opacidad de la cornea, fiebre, ni pérdida del apetito, comportándose dentro de lo normal hasta el final del experimento. En los cuatro verracos restantes (80%), no se presentó ninguna evidencia clínica de la EOA, no hubo fiebre (Grafica 6), y el apetito y el estado de bienestar permanecieron normales; tanto en el período PV como en el período PD; los testículos permanecieron normales, de forma uniforme y sin presentar ningún signo de inflamación, hasta el momento del sacrificio de los cerdos.

### PERÍODO POSVACUNACIÓN



**Fig. 11.- Grupo Vacunado y Desafiado.  
Testículos normales.  
Día 6 del experimento  
(día 6 posvacunación).**

## PERÍODO POSDESAFÍO

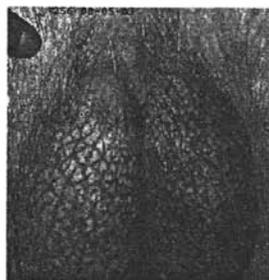


**Fig. 12.- Grupo Vacunado y Desafiado.  
Testículos normales.  
Día 50 del experimento  
(día 9 posdesafío).**

## CERDO 256 CON LIGERA INFLAMACIÓN DE LA COLA DEL EPIDIDIMO Y DEL PARÉNQUIMA TESTICULAR DE AMBOS ÓRGANOS



**Fig. 13.- Grupo Vacunado y Desafiado.  
Ligera inflamación Testicular.  
Día 57 del experimento  
(día 15 posdesafío).**

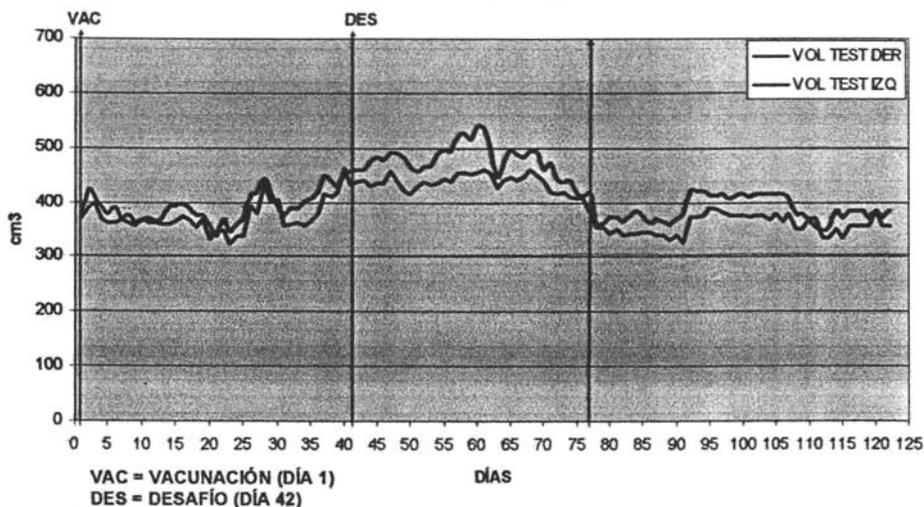


**Fig. 14.- Grupo Vacunado y Desafiado.  
Ligera inflamación Testicular.  
Día 57 del experimento  
(día 15 posdesafío).**

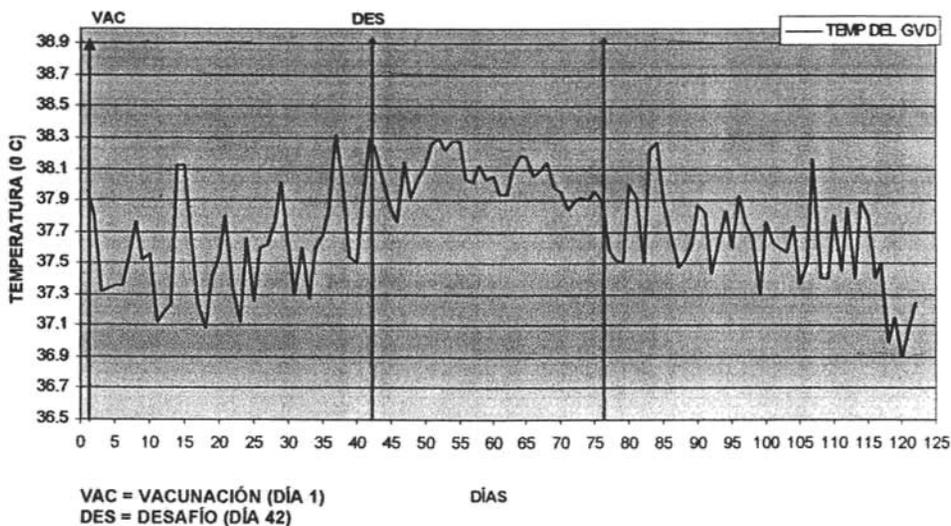


**Fig. 15.- Grupo Vacunado y Desafiado.  
Disminución de la inflamación.  
Día 85 del experimento  
(día 44 posdesafío).**

**GRÁFICA. 5.- PROMEDIO DEL VOLUMEN TESTICULAR DEL GRUPO VACUNADO Y DESAFIADO DURANTE EL EXPERIMENTO**



**GRÁFICA. 6.- PROMEDIO DE LAS TEMPERATURAS RECTALES DEL GRUPO VACUNADO Y DESAFIADO, DURANTE EL EXPERIMENTO**



**GRUPO CONTROL NO VACUNADO Y SI DESAFIADO (GCNVD).** – Este grupo se mantuvo estable, sin ningún problema, desde el inicio del experimento hasta el desafío (día 42 del experimento); mostrando, los cinco cerdos, un estado de carnes óptimo y de salud normal. Ninguno de los individuos presentó alteración testicular hasta ese momento (Figura 16, 17, 26, 27).

Los verracos no presentaron ninguna signología de la EOA, hasta el día 11 PD. Posteriormente, el día 12 PD, uno de los cinco animales (No. 225) presentó orquitis bilateral, por espacio de 16 días, la cual fue disminuyendo poco a poco; y a partir del día 27 PD únicamente disminuyó en el testículo izquierdo. El testículo derecho se mantuvo inflamado desde el día 12, hasta el día del sacrificio del animal (día 35 PD). A partir del día 12 PD se detectó fiebre de  $40.3^{\circ}\text{C}$  a  $39.2^{\circ}\text{C}$  por un período de cuatro días, decaimiento, apatía y anorexia; estos últimos signos fueron observados por un período de siete días.

El día 13 posdesafío un segundo animal (No. 299) mostró signología similar a la del cerdo anterior, con orquitis bilateral (Figura 18,19); a partir del día 24 PD se observó que el testículo izquierdo comenzó a disminuir de tamaño paulatinamente, sin llegar a la atrofia no obstante que este cerdo sí llegó hasta el final del experimento (Figura 20,21). El testículo derecho se mantuvo inflamado hasta el día 67 PD y a partir de entonces y hasta el final del experimento, fue menos aparente esta alteración, pero no se atrofió. Se manifestó una temperatura de entre  $39.4^{\circ}\text{C}$  y  $39.0^{\circ}\text{C}$ , a partir del día 13 PD, por un lapso de tres días. El día 7 PD presentó eritema cutáneo en la cara, vientre, orejas, testículos y en la región crural externa (Figura 22), además de mostrar caída de las cerdas de la piel de la cara externa de ambos miembros posteriores; y esto se dejó de presentar a partir del día 33 posdesafío; y ese mismo día únicamente se presentó una ligera secreción ocular unilateral derecha.

**GRUPO CONTROL NO VACUNADO Y SÍ DESAFIADO  
CERDO No 299 .- PERÍODO ANTERIOR AL DEL DESAFÍO**

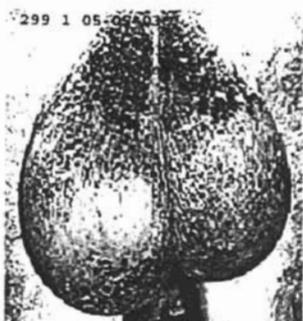


**Fig. 16.- Grupo control no vacunado y sí desafiado  
Testículos normales.  
Día 6 del experimento.**



**Fig. 17.- Grupo control no vacunado y sí desafiado  
Testículos normales.  
Día 23 del experimento.**

**PERÍODO POSDESAFÍO**



**Fig. 18.- Grupo control no vacunado y sí desafiado  
Orquitis bilateral y eritema.  
Día 54 del experimento  
(día 13 posdesafío).**



**Fig.19.- Grupo control no vacunado y sí desafiado**  
**Orquitis bilateral**  
**Día 61 del experimento**  
**(día 20 posdesafío).**



**Fig. 20.- Grupo control no vacunado y sí desafiado**  
**Disminución de la orquitis**  
**Día 65 del experimento**  
**(día 24 posdesafío).**



**Fig. 21.- Grupo control no vacunado y sí desafiado**  
**Disminución de la orquitis**  
**Día 121 del experimento**  
**(día 80 posdesafío).**



**Fig. 22.- Grupo control no vacunado**  
**y sí desafiado**  
**Eritema cutáneo**  
**Día 57 del experimento**  
**(día 16 posdesafío).**

El día 8 PD, otro animal (**No 224**), mostró primero edema palpebral bilateral significativo, unido a secreción ocular bilateral (Figura 23 Y 24), junto con eritema cutáneo en la cara, orejas, vientre, testículos y región crural (Figura 25), por un período de 64 días; disminuyendo poco a poco, hasta el día 72 PD, en que desapareció.

**GRUPO CONTROL NO VACUNADO Y SÍ DESAFIADO**  
**CERDO No 224 .- PERÍODO POSDESAFÍO**



**Fig. 23 y 24.- Grupo control no vacunado y sí desafiado.**

**Secreción ocular y edema palpebral bilateral.**

**Día 49 del experimento**

**(día 8 posdesafío).**

**Fig. 25.- Grupo control no vacunado y sí desafiado**

**Eritema cutáneo (en vientre, miembros, testículos, orejas y cara).**

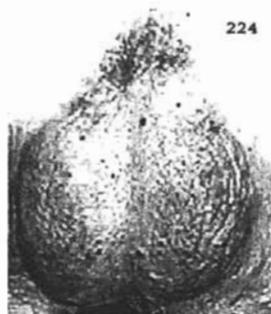
**Día 57 del experimento**

**(día 16 Posdesafío).**



A partir del día 16 PD el mismo verraco (**No 224**) mostró fiebre, de 39.1 a 39.7°C (los días 16,17 y 18 PD, del experimento); el día 18 PD, se presentó una orquitis unilateral izquierda severa; la cual perduró por 10 días (Figura 28 y 29), y después el testículo se atrofió considerablemente y no se regeneró durante todo el experimento (Figura 30). El testículo derecho, el día 27 PD comenzó a incrementar su tamaño y éste no se atrofió, llegando así el animal hasta el día del sacrificio (Figura 31,32). El día 54 PD, a la palpación se percibió una masa de consistencia firme, no desplazable, en la cola del epidídimo de ambos testículos.

### PERÍODO ANTES DEL DESAFÍO

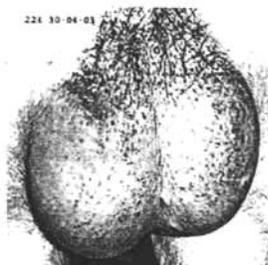


**Fig. 26.- Grupo control no vacunado y sí desafiado  
Testículos normales.  
Día 6 del experimento.**



**Fig. 27.- Grupo control no vacunado y sí desafiado  
Testículos normales.  
Día 10 del experimento.**

## PERÍODO POSDESAFÍO



**Fig. 28.- Grupo control no vacunado y sí desafiado**  
**Orquitis unilateral izquierda.**  
**Día 49 del experimento**  
**(día 8 posdesafío).**



**Fig. 29.- Grupo control no vacunado y sí desafiado**  
**Orquitis unilateral izquierda.**  
**Día 57 del experimento**  
**(día 16 posdesafío).**



**Fig. 30.- Grupo control no vacunado y sí desafiado**  
**Disminución del volumen testicular izquierdo y**  
**aumento del testículo derecho.**  
**Día 66 del experimento**  
**(día 25 posdesafío).**



**Fig. 31.- Grupo control no vacunado y sí desafiado**  
**Atrofia unilateral izquierda y aumento del testículo**  
**derecho.**  
**Día 85 del experimento**  
**(día 44 posdesafío).**



**Fig. 32.- Grupo control no vacunado y si desafiado**

**Atrofia marcada del testículo izquierdo y orquitis unilateral derecha.**

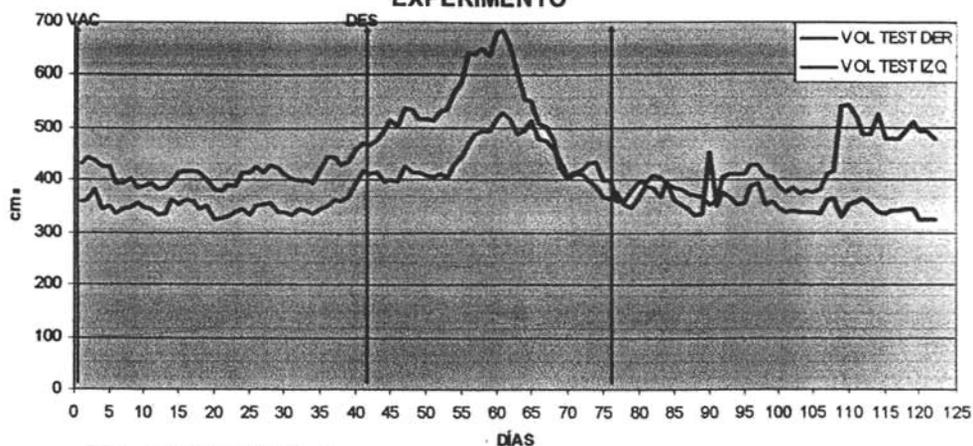
**Día 121 del experimento  
(día 80 posdesafío).**

El día 15 PD, el cerdo (**No 254**) comenzó a mostrar orquitis unilateral izquierda, la cual permaneció por un período de 12 días. Posteriormente, igual que el cerdo anterior (**224**), se observó una atrofia irreversible del testículo izquierdo, hasta el día del sacrificio del animal. El testículo derecho se mantuvo de un tamaño normal durante todo el experimento. Asimismo a partir del día 17 PD se presentó secreción ocular bilateral, eritema cutáneo en el vientre, miembros y cara, por espacio de 10 días.

Con relación al último verraco (**No 249**), al inicio del experimento se notó que normalmente tenía el testículo izquierdo más grande que el derecho. Y fue el único que presentó orquitis unilateral derecha, severa, que comenzó el día 14 PD y permaneció por espacio de 12 días. En este tiempo, conjuntamente hubo eritema cutáneo, secreción ocular y edema palpebral bilateral; además de anorexia y decaimiento por dos días. El tamaño del testículo derecho disminuyó gradualmente del día 25 al 44 PD; hasta llegar a la atrofia irreversible del órgano. El testículo izquierdo incrementó su tamaño paulatinamente desde el día 25 PD, y el día 38 PD se notó significativamente la orquitis del testículo; y el día 54 PD, se percibió a la palpación, en la cola del epidídimo, masas de consistencia firme, por un período de cuatro días. El testículo izquierdo se mantuvo inflamado y el derecho permaneció atrofiado hasta el día del sacrificio del animal.

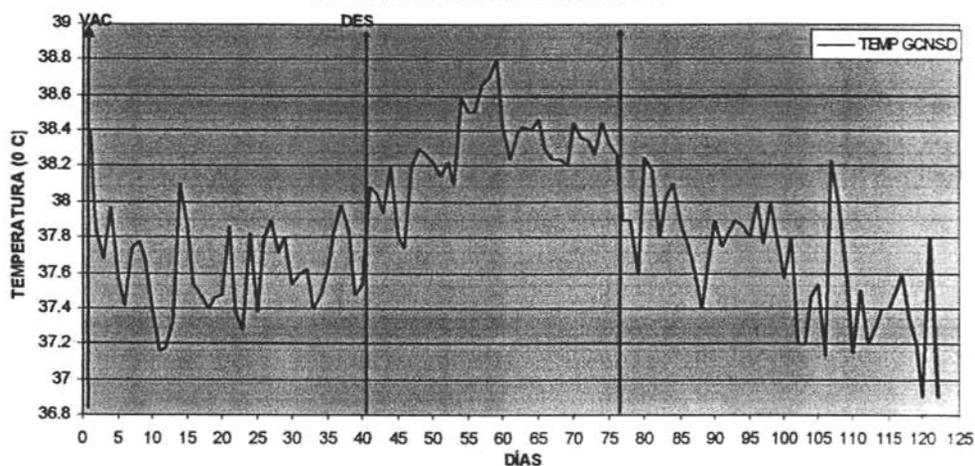
Durante el experimento tres de los cinco animales, manifestaron aumento en su temperatura (desde 39.1 a 40.03), los dos verracos restantes no manifestaron este aumento como tal (Grafica 8).

**GRÁFICA. 7.- PROMEDIO DEL VOLUMEN TESTICULAR DEL GRUPO CONTROL NO VACUNADO Y SÍ DESAFIADO DURANTE EL EXPERIMENTO**



VAC = VACUNACIÓN (DÍA 1)  
DES = DESAFÍO (DÍA 42)

**GRÁFICA. 8.- PROMEDIO DE LAS TEMPERATURAS RECTALES DEL GRUPO CONTROL NO VACUNADO Y SÍ DESAFIADO DURANTE EL EXPERIMENTO**



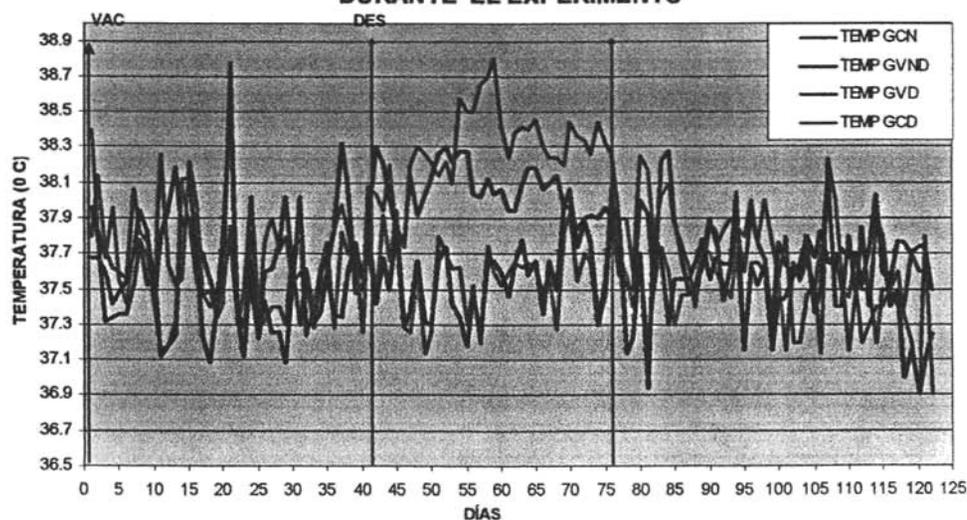
VAC = VACUNACIÓN (DÍA 1)  
DES = DESAFÍO (DÍA 42)

Debido a que las gráficas están representadas en base al promedio de los cinco animales no llegan a representar fiebre, pero como ya se mencionó, si se manifestó elevación de la temperatura, en tres de los cinco cerdos, por espacio de tres a cuatro días.

Durante el desarrollo del experimento en ninguno de los cerdos se observó opacidad de la cornea, ni muerte a causa de la EOA.

Los cerdos de los **GCN**, **GVND**, **GVD** se mantuvieron dentro de los parámetros de temperatura normales; sin embargo, en el **GVD** si se detectó un aumento en la temperatura rectal en el periodo PD, sin pasarse del rango normal (la temperatura rectal de los grupos de cerdos está representada en base al promedio de los cinco animales, por lo que no se observa fiebre). En el **GCNVD**, a partir del día 12 PD se registró fiebre, manteniéndose durante cuatro días, y posteriormente comenzó a disminuir paulatinamente llegando a los parámetros normales (Gráfica 9).

**GRÁFICA. 9.- TEMPERATURA RECTAL DE LOS 4 GRUPOS DURANTE EL EXPERIMENTO**



VAC = VACUNACIÓN (DÍA 1)  
DES = DESAFÍO (DÍA 42)

**SIGNOS CLÍNICOS DE LA EOA EXPRESADOS EN %**

<b>GRUPO CONTROL NEGATIVO</b>		
		<b>%</b>
<b>No. DE AFECTADOS / No DE ANIMALES</b>	<b>0/5</b>	<b>0</b>

<b>GRUPO VACUNADO NO DESAFIADO</b>		
		<b>%</b>
<b>No. DE AFECTADOS / No DE ANIMALES</b>	<b>0/5</b>	<b>0</b>

<b>GRUPO VACUNADO Y DESAFIADO</b>		
		<b>%</b>
<b>No. DE AFECTADOS / No DE ANIMALES</b>	<b>1/5</b>	<b>20</b>
<b>LIGERA INFLAMACIÓN EN TESTÍCULOS Y COLAS DEL EPIDÍDIMO/ No DE ANIMALES</b>	<b>1/5</b>	<b>20</b>

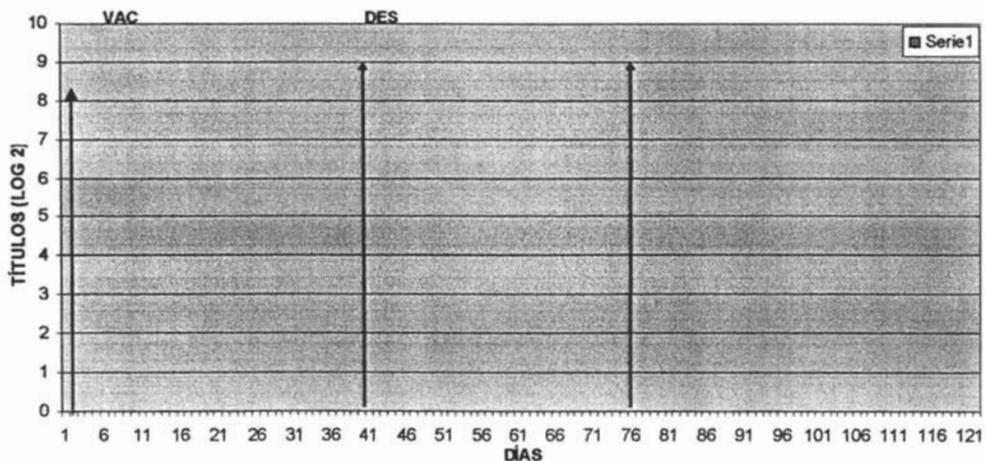
<b>GRUPO CONTROL NO VACUNADO Y SÍ DESAFIADO</b>		
		<b>%</b>
<b>No. DE AFECTADOS / No DE ANIMALES</b>	<b>5/5</b>	<b>100</b>
<b>CASOS CON OPACIDAD CORNEAL</b>	<b>0/5</b>	<b>0</b>
<b>ANOREXIA Y APATIA</b>	<b>2/5</b>	<b>40</b>
<b>ORQUITIS</b>	<b>5/5</b>	<b>100</b>
<b>ORQUITIS BILATERAL</b>	<b>2/5</b>	<b>40</b>
<b>ORQUITIS UNILATERAL IZQUIERDA</b>	<b>2/5</b>	<b>40</b>
<b>ORQUITIS UNILATERAL DERECHA</b>	<b>1/5</b>	<b>20</b>
<b>ORQUITIS BILATERAL SEGUIDA DE ATROFIA BILATERAL</b>	<b>0/5</b>	<b>0</b>
<b>ORQUITIS UNILATERAL IZQUIERDA SEGUIDA DE ATROFÍA UNILATERAL IZQUIERDA</b>	<b>2/5</b>	<b>40</b>
<b>ORQUITIS UNILATERAL DERECHA SEGUIDA DE ATROFÍA UNILATERAL DERECHA</b>	<b>1/5</b>	<b>20</b>
<b>ERITEMA CUTÁNEO</b>	<b>4/5</b>	<b>80</b>
<b>EDEMA PALPEBRAL BILATERAL</b>	<b>1/5</b>	<b>20</b>
<b>EDEMA PALPEBRAL UNILATERAL IZQUIERDO</b>	<b>0/5</b>	<b>0</b>
<b>EDEMA PALPEBRAL UNILATERAL DERECHO</b>	<b>1/5</b>	<b>20</b>
<b>SECRECIÓN OCULAR BILATERAL</b>	<b>3/5</b>	<b>60</b>
<b>GRANULOMAS EN LA COLA DEL EPIDÍDIMO</b>	<b>2/5</b>	<b>40</b>
<b>FIEBRE</b>	<b>3/5</b>	<b>60</b>
<b>PÉRDIDA DE CERDAS</b>	<b>4/5</b>	<b>80</b>

## SEROLOGÍA

Los resultados de las pruebas serológicas demostraron que antes de la vacunación los cerdos efectivamente estaban libres de anticuerpos contra la EOA. Las gráficas (10, 11, 12,13) están realizadas en base a los promedios de los títulos de anticuerpos de los animales de cada grupo, representados en Log 2.

**GCN.-** En este grupo nunca se detectaron títulos de anticuerpos (Acs) contra la EOA durante todo el experimento (Gráfica 10).

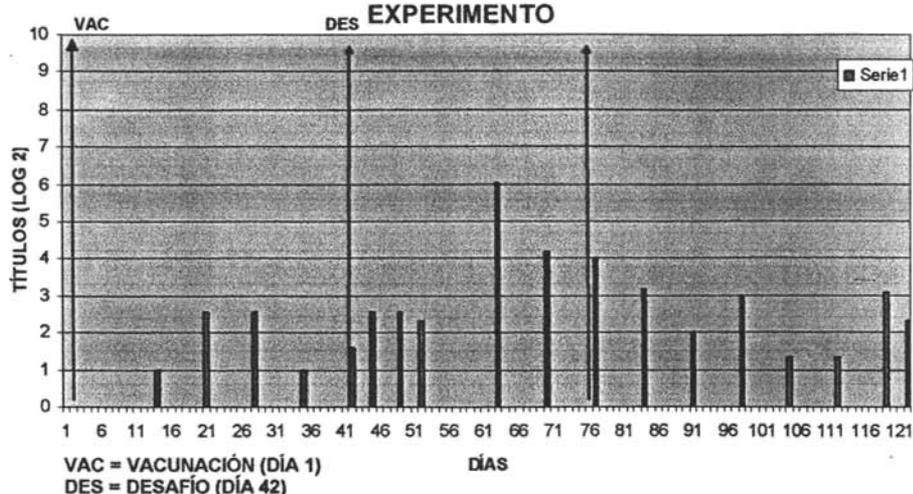
**GRÁFICA. 10.- PROMEDIO DE LOS ANTICUERPOS DEL GRUPO CONTROL NEGATIVO DURANTE EL EXPERIMENTO**



VAC = VACUNACIÓN (DÍA 1)  
DES = DESAFÍO (DÍA 42)

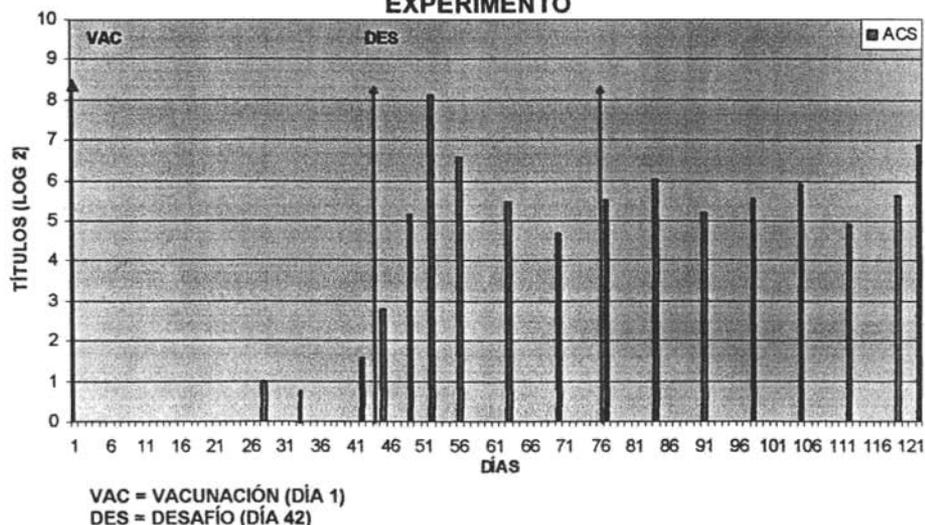
**GVND.-** Los anticuerpos IH fueron detectados a partir del día 14 del período PV con títulos de 1:10 (lóg. 3.32) y el título máximo que obtuvo este grupo fue de 1:320 (log 8.32) (Gráfica 11).

**GRÁFICA 11.- PROMEDIO DE LOS ANTICUERPOS DEL GRUPO VACUNADO NO DESAFIADO DURANTE EL EXPERIMENTO**

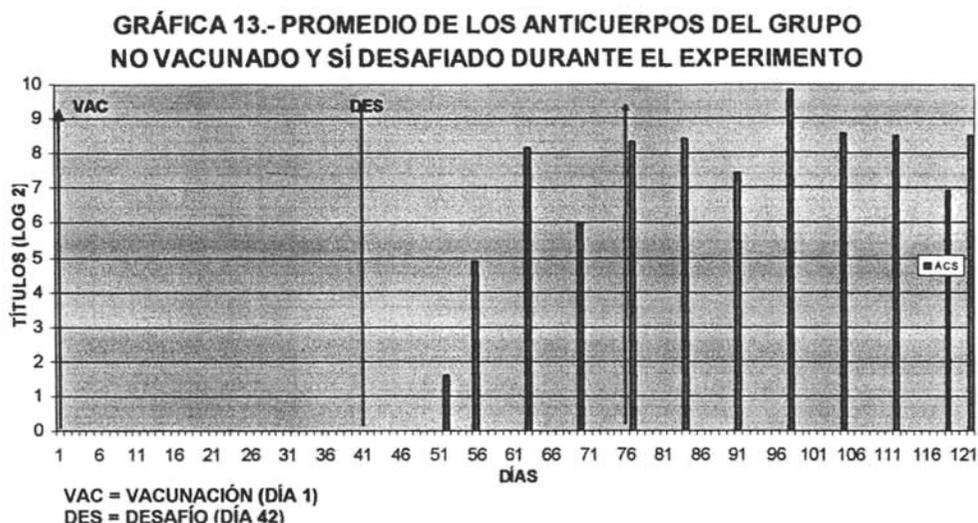


**GVD.-** Los anticuerpos IH fueron detectados a partir del día 28 PV con títulos de 1:10 (log 3.32) y el máximo de títulos de anticuerpos fue de 1:640 (log 9.32) (Gráfica 12).

**GRÁFICA 12.- PROMEDIO DE LOS ANTICUERPOS DEL GRUPO VACUNADO Y DESAFIADO DURANTE EL EXPERIMENTO**



**GCNVD.-** En este grupo se observó que los anticuerpos contra la EOA, se detectaron a partir de los 10 días después del desafío, con títulos de 1:5 y 1:10 (log 2.32 y 3.32) y alcanzando un máximo de 1: 2560 (Log 11.32) (Gráfica 13).



## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Como ya se mencionó, el análisis estadístico fue una comparación de medias entre los cuatro grupos (**GCN**, **GVND**, **GVD**, **GCNVD**), realizando cinco combinaciones entre ellos; y por otra parte, se analizó el día 1 y 2 y el día 42 y 43, para la posible diferencia estadística de un día a otro, de cada grupo empleando los datos obtenidos de temperatura rectal, volumen testicular y títulos de anticuerpos; se analizaron los días mas significativos: día 1 y 2 PV (inicio de este período); día 14 y 28 PV (aparición de los primeros títulos de Acs); día 42 y 43 PD (primeros días de este otro período); día 54, 55, 57 PD (inicio de los signos de la EOA: orquitis é hipertermia); día 58 PD (mayor rango de temperatura del **GCNVD**); día 60 y 61 PD (mayor rango de inflamación testicular, junto con elevación de

títulos de anticuerpos posdesafío del **GCNVD**), y el día 76 (término del análisis estadístico). Para la obtención de estos días se elaboraron las gráficas 14, 15, 16 y 17, en las cuales se incluyeron los datos obtenidos de temperatura rectal, volumen testicular y títulos de anticuerpos en el mismo gráfico.

**TEMPERATURA.-** Se comparó el **GCNVD** contra el **GVND**, y no se encontró diferencia estadística significativa ( $P \geq 0.05$ ), de el día 1 al día 28; pero del día 42 a el día 61 sí se encontró diferencia estadística significativa ( $P \leq 0.05$ ); y el día 76 nuevamente los resultados no revelaron diferencia significativa (Cuadro 2 y gráficas 15 y 17).

Al comparar al **GCNVD** contra el **GVD**, los datos obtenidos no mostraron diferencia significativa ( $P \geq 0.05$ ), del día 1 al 55; pero los días 57 y 58 sí fueron significativos estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ); y ya no hubo diferencia ( $P \geq 0.05$ ) los últimos días: 60, 61,76 (Cuadro 2 y gráficas 16 y 17).

En la comparación del **GCN** con el **GVND**, se observó que durante todo el análisis no hubo diferencia estadística significativa ( $P \geq 0.05$ ) (Cuadro 2 y gráficas 14 y 15).

Por otra parte, al comparar el **GCN** con el **GVD**, los resultados obtenidos de los días: 1, 2, 28, 43, 58, 60 y 76 no fueron significativos ( $P \geq 0.05$ ); y sí se encontró diferencia estadística significativa ( $P \leq 0.05$ ) los días 14, 42, 54, 55, 57 y 61 (Cuadro 2 y gráficas 14 y 16).

La última comparación realizada fue la de el **GVND** contra el **GVD**; en los días 1, 2 y 14 no se encontró diferencia estadística significativa ( $P \geq 0.05$ ); sin embargo, los días: 28, 42, 43, 54, 55, 57, 58, 60 y 61 sí se presentaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ); pero el día 76, ya no hubo diferencia ( $P \geq 0.05$ ) (Cuadro 2 y gráficas 15 y 16).

Al analizar cada grupo y comparar individualmente cada uno, del día 1 al día 2, y del día 42 al día 43, con el objeto de encontrar una posible diferencia estadística y ver si al vacunar y al desafiar, se presentaba elevación de la temperatura, un día después de su aplicación; se realizó el análisis mencionado. Los resultados no mostraron diferencia estadística significativa ( $P \geq 0.05$ ).

**Cuadro 2.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA TEMPERATURA RECTAL OBSERVADA.**

DÍAS SIGNIFICATIVOS	GVND vs GCNVD	GVD vs GCNVD	GCN vs GVND	GCN vs GVD	GVND vs GVD
1	0.09°	0.50°	0.54°	0.20°	0.19°
2	0.52°	0.84°	0.12°	0.17°	0.58°
14	0.33°	0.92°	0.21°	0.01▲	0.37°
28	0.08°	0.86°	0.52°	0.12°	0.03▲
42	0.00▲	0.09°	0.78°	0.00▲	0.00▲
43	0.20°	0.09°	0.51°	0.42°	0.03▲
54	0.02▲	0.51°	0.18°	0.00▲	0.00▲
55	0.00▲	0.50°	0.51°	0.00▲	0.00▲
57	0.00▲	0.01▲	0.70°	0.00▲	0.00▲
58	0.00▲	0.02▲	0.58°	0.15°	0.01▲
60	0.00▲	0.20°	0.55°	0.05°	0.03▲
61	0.00▲	0.09°	0.30°	0.02▲	0.00▲
76	0.36°	0.26°	0.53°	0.30°	0.65°

P = 0.05 error

P = 0.95 confianza

● P  $\geq$  0.05 (no hay diferencia significativa)

▲ P  $\leq$  0.05 (sí hay diferencia significativa).

**VOLUMEN TESTICULAR.-** Al hacer el análisis estadístico con los datos del volumen testicular, mediante pruebas de T (comparación de medias), no se lograron detectar diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, en los días específicos (1,2,14,28,,42,43,54,55,57,58,60,61,76).

Esto probablemente se debió a que los valores analizados tendían hacia la media. Refiriéndose al **GCNVD**, cuando apareció el primer cerdo con orquitis (día12 PD) los cuatro restantes permanecieron normales, hasta que apareció con orquitis el segundo animal (día 13 PD) y así sucesivamente. Y al analizar esto contra los otros 3 grupos, los valores se inclinaba hacia la media, dando resultados estadísticamente no significativos ( $P \geq 0.05$ ). El mismo fenómeno se presentó cuando desapareció la orquitis.

Debe recordarse que una limitante para la comparación de medias, o prueba de T, es el número de observaciones, que en este caso fue de cinco observaciones (5 cerdos) por grupo (Cuadro 3).

**TÍTULOS DE ANTICUERPOS.-** El reducido número de observaciones por grupo no permitió realizar una comparación de medias entre grupos, debido a que solamente se tuvieron cinco observaciones por grupo. En los grupos **GVND**, **GVD**, **GCNVD**, los cerdos no presentaron la respuesta inmune al mismo tiempo; lo cual fue otro factor que impidió realizar el análisis estadístico. Además, cómo ya se mencionó, únicamente se tomo como máximo el día 76, para hacer el análisis.

**Cuadro 3.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL VOLUMEN TESTICULAR  
OBSERVADO.**

DÍAS SIGNIFICATIVOS	GVND vs GCNVD	GVD vs GCNVD	GCN vs GVND	GCN vs GVD	GVND vs GVD
1	▲0.81	▲0.53	▲0.97	▲0.27	▲0.49
2	▲0.84	▲0.82	▲0.99	▲0.97	▲0.98
14	▲0.27	▲0.93	▲0.55	▲0.51	▲0.32
28	▲0.95	▲0.88	▲0.92	▲0.88	▲0.86
42	▲0.74	▲0.95	▲0.52	▲0.32	▲0.99
43	▲0.89	▲0.86	▲0.61	▲0.45	▲0.97
54	▲0.57	▲0.50	▲0.96	▲0.89	▲0.93
55	▲0.40	▲0.49	▲0.81	▲0.70	▲0.87
57	▲0.21	▲0.39	▲0.81	▲0.54	▲0.68
58	▲0.42	▲0.35	▲0.90	▲0.93	▲0.95
60	▲0.22	▲0.31	▲0.85	▲0.59	▲0.75
61	▲0.20	▲0.31	▲0.95	▲0.67	▲0.66
76	▲0.65	▲0.55	▲0.57	▲0.57	▲0.99

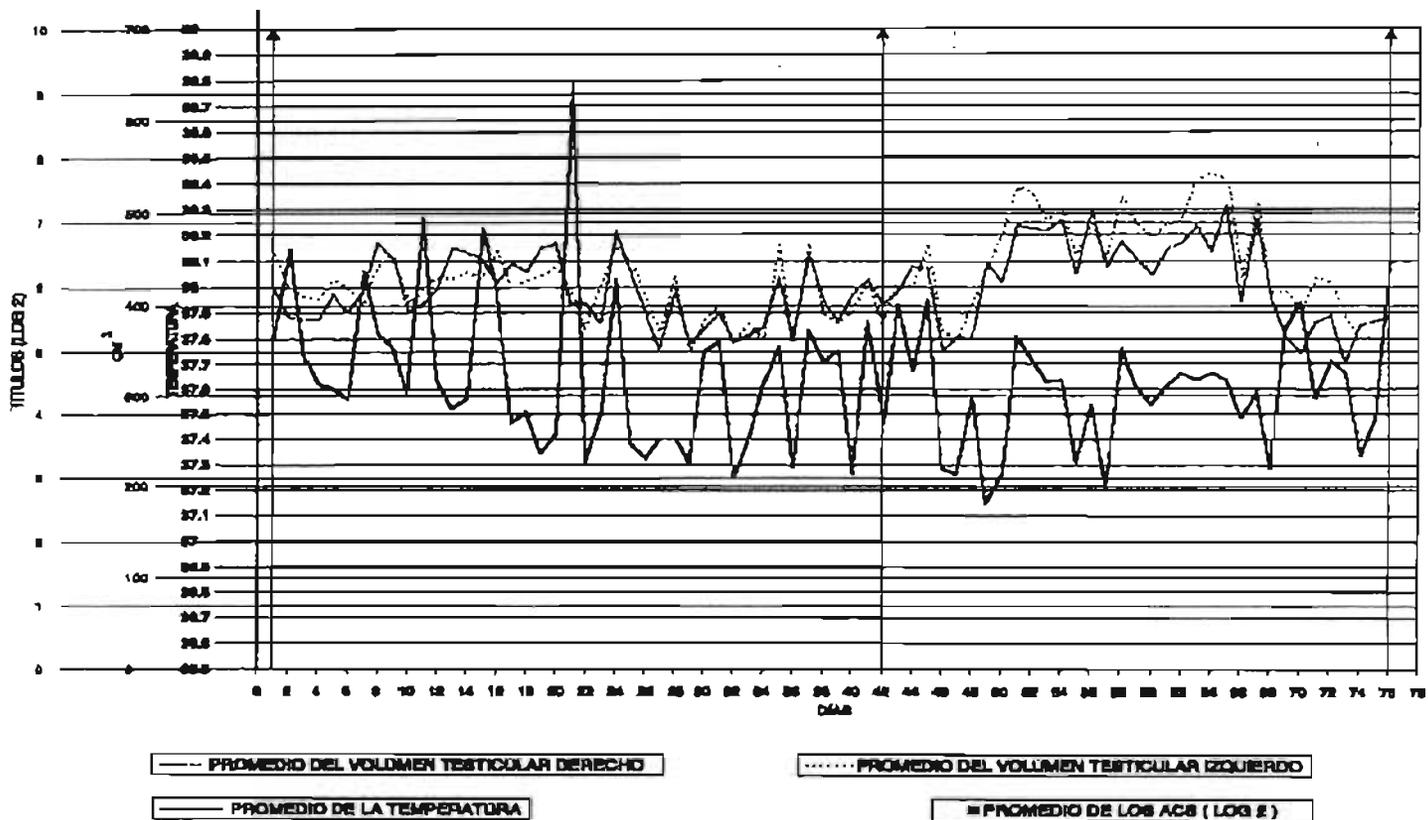
P = 0.05 error

P = 0.95 confianza

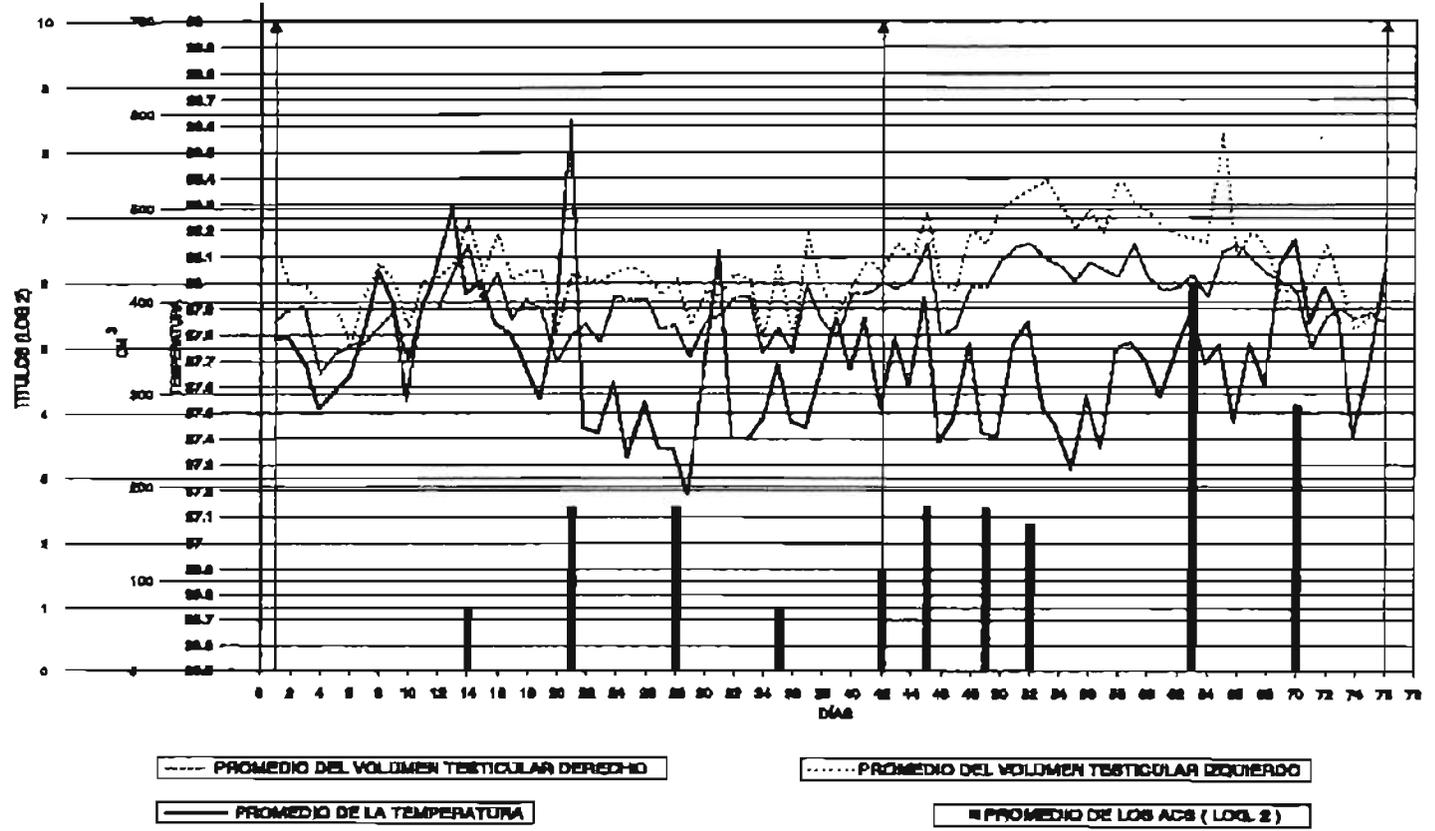
● P ≥ 0.05 (no hay diferencia significativa)

▲ P ≤ 0.05 (sí hay diferencia significativa)

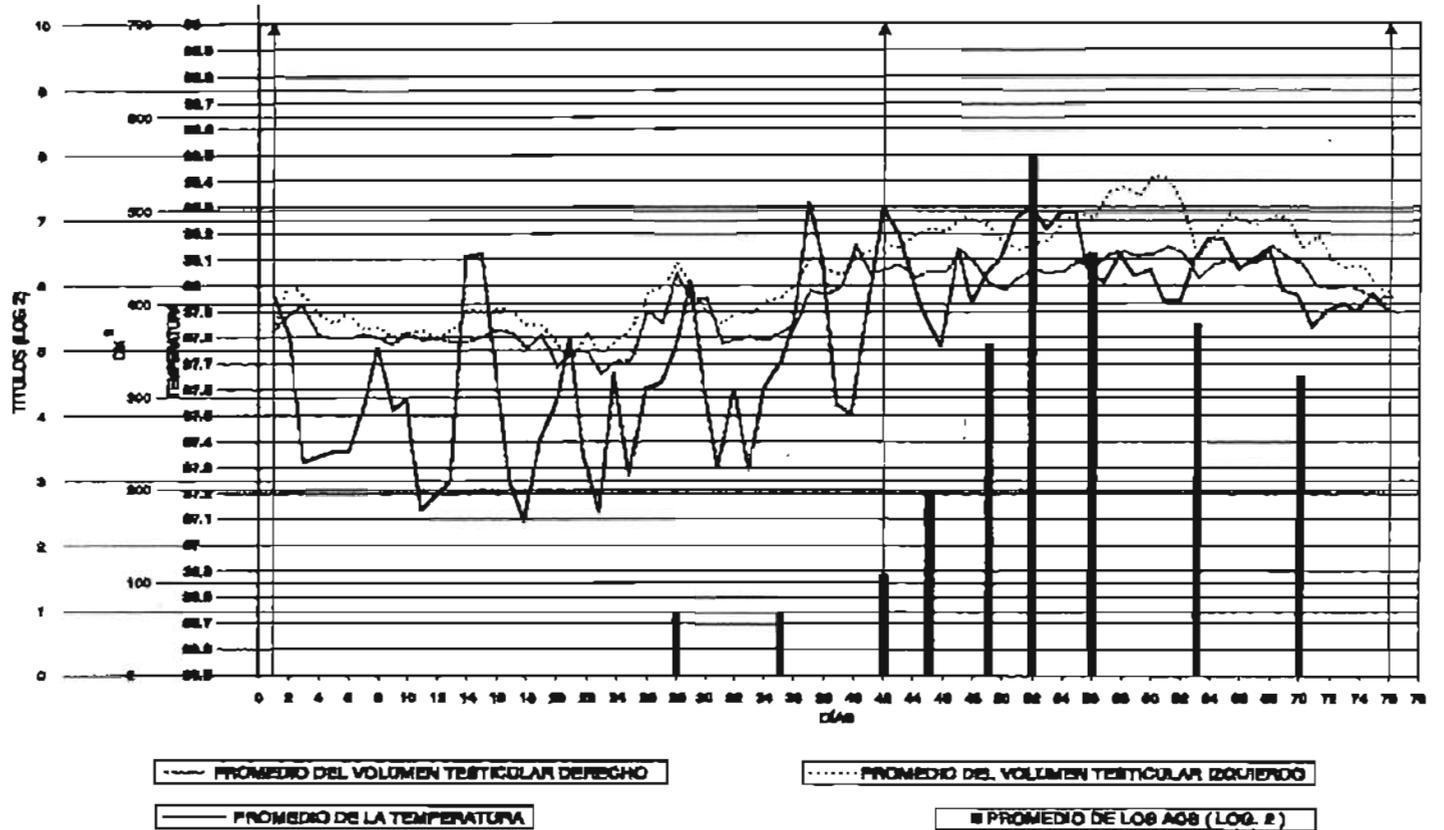
**GRÁFICA 14.- TEMPERATURA, VOLUMEN TESTICULAR Y TÍTULOS DE ANTICUERPOS DEL GRUPO CONTROL NEGATIVO, HASTA EL DÍA 76 DEL EXPERIMENTO.**



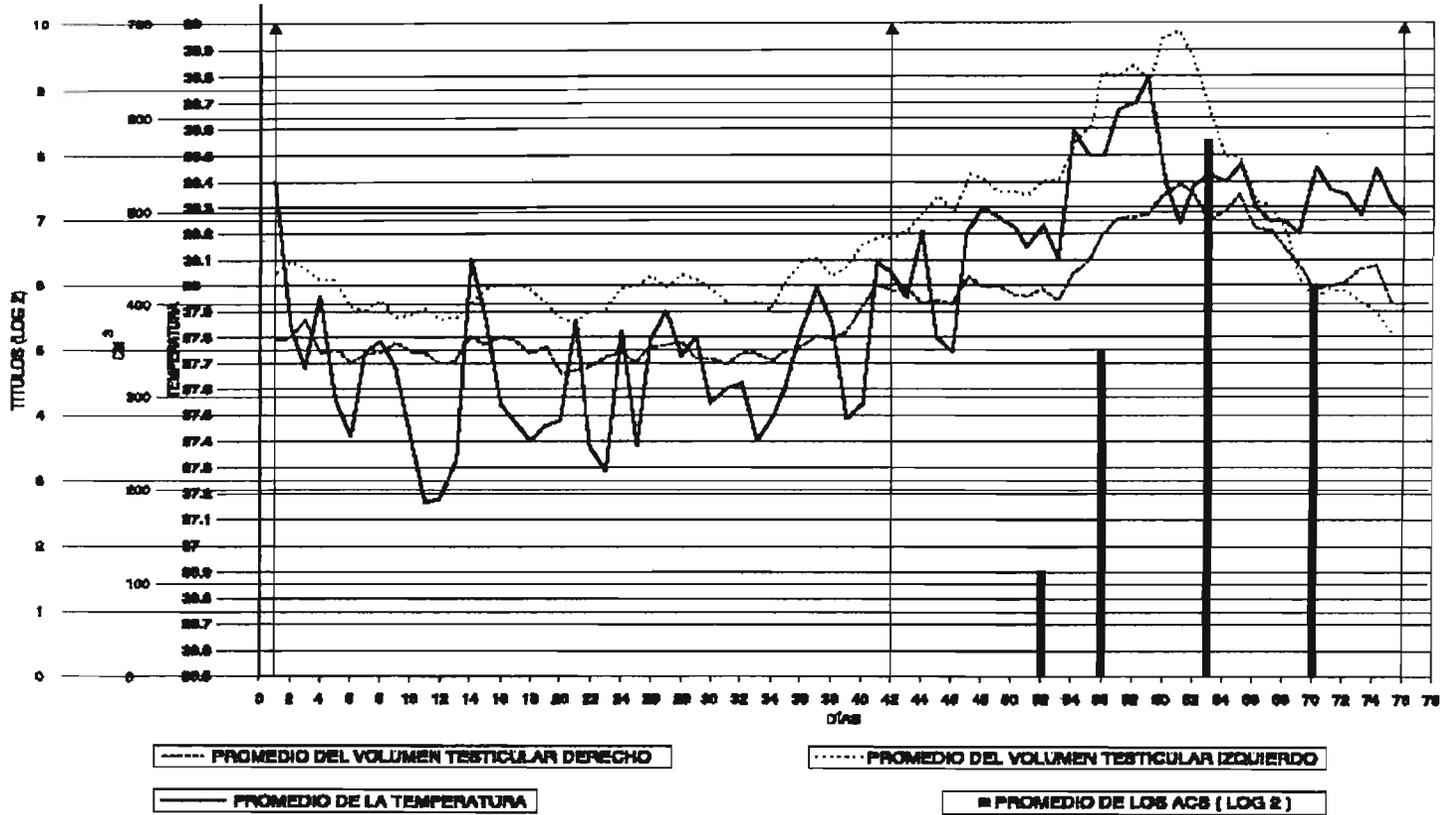
**GRÁFICA 15.- TEMPERATURA, VOLUMEN TESTICULAR Y TÍTULOS DE ANTICUERPOS DEL GRUPO VACUNADO NO DESAFIADO, HASTA EL DÍA 78 DEL EXPERIMENTO.**



**GRÁFICA 18.- TEMPERATURA, VOLUMEN TESTICULAR Y TÍTULOS DE ANTICUERPOS DEL GRUPO VACUNADO Y DESAFIADO, HASTA EL DÍA 78 DEL EXPERIMENTO.**



**GRÁFICA 17.- TEMPERATURA, VOLUMEN TESTICULAR Y TÍTULOS DE ANTICUERPOS DEL GRUPO CONTROL NO VACUNADO Y SIN DESAFIADO, HASTA EL DÍA 76 DEL EXPERIMENTO.**



## DISCUSIÓN

La EOA ha sido una de las principales enfermedades que afecta a la porcicultura Mexicana <sup>21</sup>. Se ha considerado como un problema enzoótico en el centro del país, de difícil control <sup>19</sup>. La amplia difusión de la enfermedad, se debe a que no se ha logrado controlar la movilización de los animales infectados o portadores <sup>5, 19, 20</sup>. Una de las formas de llevar a cabo la prevención y el control de la enfermedad es a través de la vacunación<sup>24</sup>. Se han usado vacunas autógenas formolizadas experimentales, elaboradas informalmente con cerebros de animales que murieron después de presentar signos de la EOA, de las que se desconoce su efectividad. También se sabe de vacunas inactivadas experimentales elaboradas con virus cultivado en líneas celulares continuas. Dos de estas vacunas aparentemente han dado resultados en condiciones de campo, ante el desafío natural; sin embargo, no se han probado mediante una prueba de potencia<sup>4</sup>.

En el CENID-M, INIFAP, se ha desarrollado una vacuna experimental inactivada oleosa, la cual ha demostrado 100 % de eficacia al ser aplicada en cerdas y lechones, bajo condiciones controladas, y en condiciones de campo<sup>35</sup>; pero faltan estudios en los cuales se observe el efecto protector de esta vacuna en los machos. Y por esta razón se estudió la inocuidad, protección y la respuesta serológica en verracos vacunados con la vacuna inactivada oleosa experimental del INIFAP.

De acuerdo a lo reportado por varios autores, el virus virulento de la EOA, en los verracos, produce incremento en el tamaño de los testículos y presencia de masas de consistencia rígida al palpar la cola del epidídimo<sup>29</sup>. Las alteraciones de los parámetros reproductivos de los verracos, se han asociado a la presencia de los mencionados nódulos, en la cabeza del epidídimo y a la atrofia testicular, que se presentan entre los 15 y 30 días posinfección <sup>15</sup>. Lo observado en este trabajo concuerda con lo reportado en la literatura consultada; sin embargo se registraron algunos signos en los cerdos del **GCVND** que no se habían informado en otros trabajos.

**GRUPO CONTROL NEGATIVO (GCN).**- En este grupo, como ya se mencionó, no se presentó ninguna manifestación clínica, ni serológica de la EOA, durante todo el experimento de acuerdo a lo que se esperaba.

Los datos observados de las dimensiones testiculares y temperatura rectal, registraron variaciones mínimas, posiblemente debido a ligeros cambios climáticos y situaciones de ligero estrés (al coleccionar muestras sanguíneas, al manejar los cerdos, etc.).

Cabe mencionar que las instalaciones de este grupo y del **GVND** tenían áreas abiertas al aire libre; mientras que el **GVD** y el **GCNVD** se encontraban en instalaciones cerradas; tales variaciones en la temperatura rectal se pudieron corroborar con el análisis estadístico, al comparar al **GCN** con los cerdos del **GVD**; ya que en algunos días hubo diferencia estadística, pero ésta fue muy significativa los días 54, 55 y 57 del experimento; y en estas tres fechas la diferencia estadística de la temperatura coincidió con el aumento de los títulos de anticuerpos en respuesta a la aplicación del virus de desafío de la EOA (inoculado el día 42 ), en el **GVD**.

Al comparar el **GCN** con el **GVND**, el análisis estadístico de la temperatura rectal no demostró ninguna diferencia estadística significativa, durante todo el estudio. Como ya se mencionó, ambos grupos se encontraban en las mismas condiciones (mismas instalaciones), lo cual explica el no haber encontrado diferencia estadística, por lo tanto la temperatura rectal encontrada en ambos grupos, se comportó de forma semejante.

Los resultados encontrados con el análisis estadístico de las temperaturas rectales del **GCN** contra el **GVND**, demostraron que la vacunación y la aplicación del placebo no causaron aumento de la temperatura.

Al analizar el **GCN** individualmente, del día 1, en el que se aplicó el placebo, al día 2 (24 horas después), no se encontró diferencia estadística; por lo cual se puede mencionar nuevamente que el placebo no causó reacción térmica, después de su aplicación.

**GRUPO VACUNADO NO DESAFIADO (GVND).** – Los resultados de este grupo no mostraron ninguna reacción clínica correspondiente a la EOA, de acuerdo a lo que se esperaba, durante el experimento.

Este grupo respondió serológicamente a partir del día 14 PV, con títulos IH de 1:10 hasta 1:320, con una elevación entre los días 61 y 76; y sus promedios de Acs se mantuvieron estables durante todo el experimento, al compararlos con los de los otros grupos.

Al igual que el **GCN**, este grupo también registró variaciones mínimas en las medidas testiculares y en las temperaturas rectales, lo cual ya se comentó anteriormente.

Al analizar estadísticamente la temperatura rectal del **GVND** contra el **GVD**, el análisis demostró que en el período PV, del día 1 al día 14 del experimento, no hubo diferencia estadística significativa; o sea que al vacunar ambos grupos se mantuvieron normales, sin mostrar aumento en la temperatura rectal.

Sin embargo, el día 28 PV y el día 42 (día del desafío), sí se encontró diferencia estadística significativa, posiblemente debida a las situaciones de estrés, antes mencionadas; y del día 43 hasta el día 61 PD, los datos siguieron revelando diferencia estadística significativa; posiblemente debida a la respuesta térmica ante la inoculación del virus de desafío de la EOA, en el **GVD**; y el día 76, los resultados ya no revelaron diferencia estadística.

Al analizar individualmente el **GVND**, se observó que del día 1, en el que se aplicó la vacuna, al día 2 (24 horas después), no se encontró diferencia estadística; por lo cual se puede mencionar, que la vacuna no causó ninguna reacción después de su aplicación en el **GVND**.

Al respecto no se cuenta con suficiente información en verracos vacunados y desafiados. Por lo cual este trabajo es uno de los primeros que reportan un estudio del efecto protector de la vacuna en verracos.

**GRUPO VACUNADO Y DESAFIADO.** – En este grupo se pudo observar que los cerdos en el período PV, permanecieron normales, ya que no presentaron signos atribuibles a la EOA. Lo cual significa que la vacuna fue inocua.

Se detectaron anticuerpos a partir del día 28 PV, con títulos de 1:10 (log 3.32) que posteriormente llegaron a subir hasta 1:640 (log 9.32). En este grupo se detectó el efecto booster estimulado por el virus de desafío, ya que del día 28 PV al día 43 PD los títulos de anticuerpos permanecieron bajos. Pero a partir de los 7 días después del desafío, los títulos fueron muy elevados, en comparación con los detectados en el período PV. Dicho fenómeno se pudo contrastar con lo ocurrido con el **GVND**, ya que en éste no se presentó tal efecto.

La vacuna protegió al 80 % de los cerdos, ante un desafío que enfermó al 100% de los controles no vacunados. Ya que después del desafío 4 de los 5 cerdos vacunados no presentaron signos clínicos de la EOA, ni elevación de la temperatura, y sólo 1 (20 %) de los vacunados manifestó una ligera inflamación en la cola del epidídimo y en el parénquima testicular, bilateralmente. Dichos signos no se comparan en cuanto a su intensidad, con los encontrados en el **GCNVD**. Ya que en éste, las manifestaciones clínicas fueron más severas.

Cuando se analizó estadísticamente la temperatura rectal del **GVD** contra el **GCNVD**, no hubo diferencia estadísticamente significativa del día 1 al día 55 PD, lo cual se puede atribuir a que la vacuna no causó elevación de la temperatura. Pero los días 15 y 16 PD (57 y 58 del experimento) sí se observó diferencia estadística significativa. Y esto concuerda con la presencia de los signos clínicos más severos, detectados en el **GCNVD**. Sin embargo, del día 60 al día 76 PD ya no se encontró diferencia estadística.

Al analizar individualmente el **GVD**, del día 1, en el que se aplicó la vacuna, al día 2 (24 horas después), no se encontró diferencia estadística; por lo cual se puede mencionar nuevamente, que al igual que en el **GVND**, la vacuna no causó ninguna reacción después de su aplicación. Y al analizar individualmente del día 42, en el que se aplicó el virus de desafío, al día 43 (24 horas PD), no se encontró diferencia estadística; por lo cual se puede mencionar, que el virus de desafío hasta ese momento no causó ninguna reacción después de su aplicación

Con base en lo observado anteriormente, se puede deducir que la vacuna inactivada vs la EOA fue inocua ya que no produjo elevación de la temperatura rectal; y que protegió al 80% de los verracos, que de acuerdo a lo establecido, en las normas oficiales, es el mínimo de protección que debe ofrecer una vacuna.

**GRUPO CONTROL NO VACUNADO SI DESAFIADO (GCNVD).**- Los cerdos que fueron se utilizaron en el grupo control positivo, dentro del experimento, al inicio de este trabajo como ya se mencionó, estaban libres de la enfermedad del EOA; y posterior al desafío el 100 % de ellos manifestaron signos clínicos atribuibles a dicha enfermedad, y respondieron serológicamente.

Los anticuerpos se detectaron a partir de los 10 días PD, con títulos de 1:5 y 1:10 (log 2.32 y 3.32), alcanzando un máximo de 1:2,560 (log 11.32); rebasando los títulos obtenidos en el **GVND** y los del **GVD**.

Al comparar el **GCVND** contra el **GVND**, estadísticamente no se encontró diferencia significativa en cuanto a la temperatura rectal, del día 1 al día 43; excepto el día 42, atribuible a situaciones de estrés. Lo cual coincide con las observaciones clínicas, ya que hasta ese momento ambos grupos se comportaron aparentemente normales; debido a que aún no se había aplicado el virus de desafío de la EOA.

Al analizar individualmente el **GCVND**, del día 42, en el que se aplicó el virus de desafío, al día 43 (24 horas después), no se encontró diferencia estadística; por lo cual se vuelve a corroborar que el virus de desafío hasta ese momento, no causó ninguna reacción después de su aplicación

Sin embargo, del día 54 al día 61 PD, sí se encontró una marcada diferencia estadísticamente significativa, al comparar ambos grupos; debido al aumento de la temperatura rectal en el **GCVND**, ocasionada por el virus de desafío de la EOA, que fue aplicado el día 42; lo cual coincide con la presentación de los signos clínicos observados. El día 76 los resultados no revelaron diferencia significativa lo que concuerda con la disminución de la severidad de los signos clínicos observados.

Los signos clínicos que se presentaron, concuerdan con lo reportado por otros autores, tales como: fiebre ( $40.3^{\circ}\text{C}$ ), la cual se registró en tres cerdos (60 %), a partir del día 12 PD hasta el día 16 PD; por un período de 3-4 días; y esto tiene similitud con la fiebre de  $40^{\circ}\text{C}$ , observada en un brote ocurrido en una granja de ciclo completo<sup>16</sup>; y con la fiebre registrada al inocular cerdos Pelón Mexicano<sup>29</sup>, sólo que en estos, la fiebre se observó entre las 24 hrs PI y duró hasta los 15 días PI.

Las manifestaciones clínicas de anorexia, decaimiento y apatía se presentaron en dos (40 %) de los cerdos, a partir del día 12 ó 14 PD, por un período de 2 a 7 días, que concuerda con lo informado anteriormente al inocular experimentalmente

a cerdos machos adultos con el RVP<sup>15</sup>, presentándose anorexia, aunque en esta investigación se detectó por el 3er día PI. También se menciona que hubo tos frecuente y conjuntivitis; aunque en esta tesis nunca se observó tos y la conjuntivitis no se verificó, porque en el 80 % de los cerdos se presentó edema palpebral bilateral significativo, secreción ocular bilateral y unilateral, a partir del día 8 PD en adelante, lo cual impidió el examen de la conjuntiva ocular.

Asímismo las demás investigaciones<sup>11, 12, 16, 32</sup>, señalan estreñimiento, opacidad de la cornea, deterioro gradual de la condición física, que comparado con este trabajo, nunca se observaron esos signos. Sin embargo, se registraron otras manifestaciones clínicas en el **GCNVD**, de las cuales no se han encontrado reportadas por otros autores, en cerdos machos adultos; tales como: eritema cutáneo en la cara, vientre, orejas, testículos y en las regiones crurales externas (en el 80 % de los cerdos); además de mostrar caída de las cerdas, de la cara externa de la piel de ambos miembros posteriores, presentándose en el 80 % de este grupo, iniciando el día 13 PD y persistiendo durante casi todo el período PD.

En las condiciones en las que se desarrolló este trabajo, también se vio afectado el aparato reproductor del macho, coincidiendo con lo reportado en la literatura, en la cual se menciona que en los verracos, generalmente no presentan signos clínicos, excepto que se ven afectados los testículos<sup>11, 12, 32</sup>. Se menciona que hay testículos hinchados, testículos y epidídimos que llegan a estar turgentes, con marcado edema; algunos más tarde desarrollan una textura de consistencia granular y muchos llegan a atrofiarse (generalmente de forma unilateral) y llegan a ser blandos y flácidos con o sin epididimitis granular<sup>11, 12, 32</sup>. En este trabajo se observó en los cerdos afectados del **GCNVD** una orquitis unilateral severa, la cual fue básicamente del lado izquierdo, con atrofia irreversible del testículo (40%); viéndose afectado el testículo derecho también, pero en menor grado, con orquitis unilateral derecha severa y con atrofia testicular (20%).

Lo observado ha sido informado en diversos trabajos <sup>11, 12, 32</sup>, como se mencionó anteriormente. Asimismo, durante un brote de la EOA ocurrido en una granja de ciclo completo, se observó, también, orquitis aguda unilateral (derecha e izquierda) o bilateral y atrofia irreversible del testículo <sup>16</sup>. En otro trabajo realizado en condiciones experimentales, los cerdos machos adultos infectados con el RVP, presentaron inflamación unilateral o bilateral, en testículo y epidídimo, siendo más afectado el testículo y epidídimo derecho, que el izquierdo; con posterior atrofia del testículo afectado <sup>15</sup>.

En este trabajo fue más evidente la afección del testículo izquierdo que del derecho, lo que no concuerda con lo mencionado en los trabajos descritos anteriormente; pero sí fue similar a lo descrito, en un trabajo experimental, realizado con cerdos de la raza Pelón Mexicano, en los cuales hubo aumento del tamaño de los testículos, siendo el cambio más evidente del lado izquierdo<sup>29</sup>.

En otro trabajo se menciona que durante un brote ocurrido en una granja de ciclo completo en Jalisco, también hubo aumento del tamaño de los testículos (izquierdo y derecho); siendo la afección más común la consistencia fibrosa, de la cabeza del epidídimo, seguida de aumento de tamaño<sup>34</sup>.

Al igual que lo mencionado en la literatura, sobre el daño en los testículos, en los cerdos del **GCNVD**, también se observaron cambios en el epidídimo; los cuales fueron: masas bilaterales de consistencia firme en la cola del epidídimo (40%), que se presentó alrededor del día 54 PD y que permanecieron por 4 días; lo anterior ha sido observado también por otros investigadores <sup>11, 12 y 32</sup>; quienes mencionan que puede haber o no una epididimitis granular.

En el trabajo realizado durante el brote de la EOA, ocurrido en una granja de ciclo completo se observó también, que puede haber epididimitis bilateral en cabeza con formaciones quísticas y de consistencia muy firme (fácilmente detectables a la palpación)<sup>16</sup>.

Durante el brote ocurrido en Jalisco, la afección más común fue la consistencia fibrosa, de la cabeza del epidídimo; el 57 % de ellos presentó una consistencia fibrosa izquierda, el 19 % el lado derecho y el 25 % afectación bilateral <sup>34</sup>. Con aumento de tamaño, de la cabeza del epidídimo el (33%) del lado izquierdo, del derecho 50 %, bilateral 16 %; y a nivel de cola del epidídimo, el 50 % de forma bilateral; 33.3 % del lado derecho y 16.6 % del lado izquierdo <sup>34</sup>. En esta tesis se observó, que la cola del epidídimo más afectada fue del lado izquierdo, lo cual difiere de lo reportado en la literatura consultada.

Al analizar los resultados de la temperatura rectal y de las observaciones clínicas de cada grupo, se notó que el día de la vacunación y el día siguiente (día 1 y 2), así como el día del desafío y el siguiente (día 42 y 43), estos parámetros nos indicaron que la vacuna no causa ninguna manifestación clínica, al igual que el virus del desafío, a las 24 horas después de su aplicación. Ya que en ambos casos no hubo elevación de temperatura al día siguiente, pero en cuestión al desafío, probablemente se debió a que el periodo de incubación en promedio es de 7 a 12 días; lo cual se apoya con los resultados obtenidos en el análisis estadístico de la temperatura, que no mostró diferencias estadísticas significativas ( $P \geq 0.05$ ).

Se puede mencionar que en el **GCNVD** se encontraron varios de los signos observados en los trabajos mencionados, realizados tanto a nivel de campo como en condiciones experimentales, teniendo como diferencia, que en el presente estudio, fue más evidente la orquitis y epididimitis del lado izquierdo, que del lado derecho, además de haber observado otros signos no reportados en verracos, tales como el eritema en la piel, el edema palpebral, y la caída de cerdas.

Tampoco hay reportes de trabajos de investigación sobre la EOA, en verracos, que estén respaldados por un análisis estadístico. Únicamente se reportan estudios porcentuales y descriptivos. Por medio de las gráficas 14, 15, 16 y 17 se lograron revelar datos importantes para determinar los días más significativos, para realizar con ellos el análisis estadístico.

En este trabajo se observó que mientras el testículo se va atrofiando, el otro testículo incrementa su tamaño; los autores consultados no lo mencionan, posiblemente esto se debe, a que cuando existe la pérdida de función de un órgano por o parte del mismo; da como resultado los trastornos de adaptación celular, como hipertrofia, que es el aumento del tamaño celular; en consecuencia, la apariencia microscópica del órgano será de aumento de tamaño y de hiperplasia, que se refiere a un aumento en el número de células y se presenta en órganos y tejidos cuyas células tienen capacidad mitótica, por lo tanto estos trastornos celulares pueden explicar el fenómeno ocurrido en los testículos.

### CONCLUSIONES

- Inicialmente se comprobó que los cerdos de los cuatro grupos estaban libres de anticuerpos contra la EOA.
- El **GCN** y el **GVND** se mantuvieron clínicamente sanos sin presentar ningún problema, tal como se esperaba.
- Los signos clínicos de la enfermedad del ojo azul, tales como: anorexia, depresión, apatía, fiebre, eritema cutáneo, orquitis bilateral o unilateral, epididimitis, atrofia, tanto de los epidídimos como de los testículos y presencia de masas de consistencia firme en el epidídimo, fueron reproducidos experimentalmente en los cinco verracos (100%) del **GCNVD**.
- Se logró diagnosticar clínicamente la EOA. y se pudo corroborar el desarrollo de anticuerpos contra el virus de la EOA en los dos grupos vacunados y en el grupo desafiado, mediante las pruebas serológicas de IH.

- La vacuna fue inocua debido a que no se presentó elevación de la temperatura rectal en el **GVD** y en el **GVND**; datos que se pudieron comprobar mediante el análisis estadístico.
- La vacuna protegió de la presentación de los signos clínicos al 80 % de los cerdos, del **GVD** ante un desafío que enfermó al 100% de los controles no vacunados y sí desafiados.
- Los signos que se observaron en el 20% del **GVD**, no fueron tan severos, como los encontrados en el **GCNVD**.
- A partir del día 76 PD, el volumen testicular, sobre todo del testículo izquierdo de los verracos del **GCNVD**, empezó a disminuir, comparado con el resto de los otros tres grupos. Lo cual sugiere atrofia testicular.
- En los cerdos que recibieron la vacuna inactivada, los Acs, vacunales se detectaron inicialmente entre el día 14 PV (**GVND**) y el día 28 PV (**GVD**).
- Al detectarse los primeros títulos de anticuerpos (días 14 y 28), en el **GVND** y **GVD**; en esos días se observó que se incrementó el volumen testicular, en ambos grupos.
- En el periodo PD los títulos de Acs fueron mayores en el **GVD**, a causa del efecto "booster" estimulado por el virus de desafío, comparado con el **GVND**.
- En el **GCNVD** el virus de desafío estimuló más rápido la producción de Acs apareciendo el día 52 PD (a los 10 días PD).

- El virus de desafío resultó más antigénico que el virus inactivado de la vacuna, porque estimuló la aparición de los Acs más rápido y a títulos más altos que el virus vacunal inactivado; mismos que se mantuvieron altos por más tiempo.
- Los resultados encontrados con el análisis estadístico de las temperaturas rectales del **GCN**, **GVND** y **GVD**, demostraron que la vacunación y la aplicación del placebo no causaron aumento de la temperatura durante el experimento.
- En el **GCN** el placebo no causó reacción térmica, a las 24 horas después de su aplicación, lo cual fue demostrado con el análisis estadístico.
- La vacuna, en el **GVND** y el **GVD**, no causó ninguna reacción térmica, a las 24 horas después de su aplicación, ya que no hubo diferencia estadística.
- En el **GCNVD** y en el **GVD** el virus de desafío no causó elevación de la temperatura rectal, al día siguiente de su inoculación, corroborándose esto con el análisis estadístico.
- En el **GCNVD** el virus de desafío causó elevación de la temperatura rectal a partir del día 12 PD y esto fue confirmado por medio del análisis estadístico, al encontrar diferencia.
- Falta validar los resultados de este trabajo en condiciones de campo.

## BIBLIOGRAFÍA.

1. Campos ME. Síndrome del ojo azul o cerdos zarcos. *In: Memoria de la XVII Convención de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos (AMVEC)*, 1981: 89-90.
2. Campos ME, Calderón E, Solorio S. "The blue eye syndrome ", Síndrome del ojo azul. *In: Proceedings of the International Pig Veterinary Society Congress*, 1982: 171.
3. Stephano HA, Gay GM, Ramírez TC, Maqueda AJJ. Estudio de un brote de encefalitis en lechones por un virus hemoaglutinante, *In : Memoria de la XVII Convención de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos (AMVEC)* , 1981: 88.
4. Correa-Girón P, Martínez LA, Pérez SJ, Coba AMA, and Solís HM. Vaccination Against. Blue Eye Disease *In: Trends in Emerging Viral Infections of Swine*. Ed . Morilla A., Yoon KJ, Zimmerman JJ., Iowa State Press 2002 : 65-69.
5. Carreón, NR, Fuentes R, M. C. Frecuencia de anticuerpos contra el paramixovirus del ojo azul en cerdos del altiplano y norte de México. *Vet. Mex.*, XXII: 2, 1991: 177-179.
6. Correa-Girón, P, Martínez L A, Ericcson, A, Moreno-López, J. Characterization of a paramixovirus isolated from a pig in Mexico, *International Pig Veterinary Society, Barcelona, Spain, 9 th Congress*, 1986: 205.

7. Moreno-López J, Correa GP, Martínez LA, Ericsson, A. Characterization of a Paramyxovirus Isolated from the Brain of a Piglet in México. *Archives of Virology*, 91, 1986: 221-231.
8. Rosales EF, Correa GP. El síndrome del ojo azul. Revisión bibliográfica. *Tec. Pec. Mex*, Vol. 27, No 3, 1989:101-116.
9. Martínez, LAC, Correa Girón P., Colinas TA. Síndrome del ojo azul producido por el paramixovirus porcino. *Boletín. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias, CENID-MICROBIOLOGIA*, 1991:1-43.
10. Larab RA, Collins PL, Kolakofsky D, Malero JA, Nagai V, Oldstone MBA, Pringle CR, and Rima BK. Family *Paramyxoviridae* In: *Virus Taxonomy. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.* Edited by Regenmortel M.H.V. van, Fauquet CM, Bishop DHL, Carstens EB, Estes MK, Lemon SM, Maniloff J, Mayo MA, McGeoch DJ, Pringle CR, Wickner RB. Virology Division. International Union of Microbiological Societies. Academic Press, USA. 2000: 549-561.
11. Reyes Leyva J, Santos G, Hernández J, Espinosa B, Borraz M del T, Ramírez H, Vallejo V y Zenteno E. Mecanismos moleculares de la patogenia viral: Estudios con el *Rubulavirus porcino*. *Mensaje Bioquímico*, Vol. XXVI. Depto. Bioquímica, Fac. Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. Cd. Universitaria, México, DF, México. (<http://aguna.fmedic.unam.mx/mensajebioquimico>). 2002: 1-29.
12. Stephano A. H. Blue Eye Disease. In : *Diseases of Swine*, 8<sup>th</sup> Ed ., Straw BE, A Ilaire, SD, Mengeling W. L. Taylor, D T, (Eds). Iowa State University Press, Ames, Iowa U.S.A, 1999: 103-112.

13. Stephano, HA; Gay,GM (1986). El síndrome del ojo azul. Una nueva enfermedad en los cerdos asociada a un paramixovirus. *Vet, mex*, 17, pp.120-123.
14. Stephano, HA; Gay,GM; Ramírez, T.C. (1988). Encephalomyelitis, reproductive failure and corneal opacity (blue eye) in pigs, associated with a paramyxovirus infection. *Vet .Rec*.122, pp. 6-10.
15. Ramírez-Mendoza H, Hernández-Jauregui P, Reyes-Leyva J, Zenteno E, Moreno López J, Kennedy S. Lesions in the Reproductive Tract of Boars Experimentally Infected with Porcine Rubulavirus. *J. Comp. Path*, 117, 1997: 237-252.
16. Campos H R, Carbajal S M. Trastornos reproductivos en los sementales de una granja porcina de ciclo completo ante un brote de ojo azul. *Avances de Prod. Porcina*, Vol. 14 , 1991: 243-244.
17. Reyes-Leyva J; Ramírez H; Hernandez J, Sánchez ME, Rodríguez J, Mercado C, Carreón R, Adair B, Herron B, Alan G, Kennedy S, Zenteno E y Hernández –Jáuregui P. El sistema olfatorio vía de ingreso del rubulavirus porcino al sistema nervioso central. I. Infección experimental y detección de antígeno. [www.uady.mx/biomedic/rb07928.htm](http://www.uady.mx/biomedic/rb07928.htm). *Revista Biomédica*. 2000.
18. Reyes-Leyva J. "Mecanismos de respuesta al paramixovirus porcino LPM". Tesis UNAM, 1998: 1-133.
19. Ramírez MH, Carreón NR, Mercado GC, Rodríguez TJ. Hemoaglutinación e inhibición de la hemoaglutinación del Paramixovirus porcino a través de la modificación de algunas variables que participan en la prueba. *Vet. Mex* ., 27 (3), 1996:257-259.

20. Hernández JP, Sundquist A, Fuentes M, Díaz AO, Reyes JL, Hernández EB, Moreno JL. Correlación entre las pruebas de Virus Neutralización, inhibición de la hemoaglutinación y ELISA en sueros vacunales y de brote para anticuerpos contra el Paramixovirus del síndrome del ojo azul en cerdos. *Vet. Mex.*, XXIII: 3. 1992: 217-222.
21. Flores Hernández Angel O. Riesgo de introducción de enfermedades exóticas de los cerdos a México. *Memorias del Symposium sobre Enfermedades del Cerdo con implicaciones en el Comercio Internacional.*, FMVZ, UNAM, SARH y AMVEC, 1992: 86-89.
22. Cuetero, R.S., Ramírez, M.H., Carreón, N.R., y Campuzano, G.J.: Inoculación experimental del paramixovirus de ojo azul en ratas de laboratorio (cepa Wistar), vía intramuscular. *Vet. Méx.*, 26 (3) 1995: 231-235.
23. Stephano, A, Gay, M. Síndrome del ojo azul en cerdos. *Memorias del Encuentro sobre enfermedades infecciosas del cerdo (AMVEC)*. Editado por P. Correa G. y A. Morilla G.; Centro Médico Nacional del IMSS. México, D.F., 6y7 de mayo, 1985: 1-13.
24. Stephano H. A. Blue Eye Disease. *In: Diseases of Swine*. Ed. Allen D. Leman, Barbara E. Straw, William L. Mengeling, Sylvie D'Allaire, David J. Taylor. 7<sup>th</sup> Edition, Iowa, State University Press / Ames, Iowa, USA., 1992: 237-241
25. Fuentes R, J M, Gay G M J, Herradora L M A, Retana RA. Evaluación de una vacuna experimental contra ojo azul en cerdos mediante las pruebas de inmunogenicidad, inocuidad, potencia y medición de la inmunidad pasiva en lechones. *Vet. Méx.*, 25 (3) , 1994: 243-246.

26. Martínez LA, Pérez SJ, Coba AMA., Correa G,P , Aguilar RF. Establecimiento de algunos parámetros en la elaboración de la vacuna inactivada oleosa vs. la enfermedad del ojo azul, Memorias del XXXV Congreso Nacional AMVEC, Acapulco, Guerrero, 2000: 63.
27. Burleson FG, Chambers TM, Wiedbrauk DL. Virology a Laboratory Manual . Edited: Academic Press Inc., 1992:53-61.
28. Martínez LA, Pérez SJ, Correa-Girón P, Coba AMA, Córdova LD. Propuesta para la estandarización del serodiagnóstico de la enfermedad del ojo azul por las pruebas de seroneutralización y de inhibición de la hemoaglutinación. Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos (AMVEC), A.C., Ixtapa-Zihuatanejo, 10 – 13 de agosto de 1997, 89.
29. Ramírez-Mendoza H, Martínez GR, Vizuet AOT, Monroy BJ. Inoculación del virus de la enfermedad del ojo azul en verracos de la raza Pelón Mexicano. Vet. Méx., 30 (1), 1999 : 1-6.
30. Arellanes A E, Fuentes R, M. C., Carreón, NR, Ramirez-Mendoza H. Inoculación experimental del paramixovirus del ojo azul en el gato doméstico (*Felis catus*). Rev. Vet. Mex. 25, 1994: 239-241.
31. Hernandez J, Reyes-Leyva J, Zenteno R, Ramírez H, Hernández –JP, Zenteno E. Immunity to porcine rubulavirus infection in adult swine. Veterinary immunology and immunopathology., 64 ,1998: 367-381.
32. Campos HR, and Carvajal SM. Trastornos Reproductivos de los sementales de una granja porcina de ciclo completo ante un brote de ojo azul. In Mem 24 th Congr Asoc Mex Vet Esp Cerdos, Morelia Méx., 1989: 62-64.

33. Martínez LA, Solís M, Coba AMA, Correa Girón EP, Loza Rubio E, Arreola L. Diagnóstico de la enfermedad del ojo azul. Tríptico. Tercer Tianguis Tecnológico, XXXIX Reunión Nacional de Investigación Pecuaria, FMVZ, UNAM, del 27 al 31 de octubre del 2003: 1-2.
34. Zermeño MF. Evaluación de las características testiculares y seminales después de un brote de la Enfermedad del Ojo Azul por Paramyxovirus en verracos. Tesis, FMVZ, UNAM, México D.F. 1994: 1.35.
35. Correa GP, Mendoza GE, Ríos MMC, Díaz VMF, Solís HM, Martínez LA, Cisneros PMA, Torres BJ. Inocuidad, antigenicidad y protección en verracos de una vacuna inactivada contra la enfermedad del ojo azul. Memorias del Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Veterinarios, especialistas en cerdos, a.c. AMVEC XXXIX, Mazatlán 2004, del 28 de Junio al 1 de Agosto.

## APÉNDICE 1

### TÉCNICA DE INHIBICIÓN DE LA HEMOAGLUTINACIÓN (IH)<sup>28</sup>.

#### 1. Fundamento de las pruebas de inhibición de la hemoaglutinación (IH).

La hemoaglutinina viral causa la aglutinación de glóbulos rojos.

La unión de los anticuerpos a la hemoaglutinina del virus da por resultados la inhibición de la hemoaglutinación.

Es una técnica altamente específica y sensible, porque detecta anticuerpos del virus hemoaglutinante que está siendo trabajado.

#### 2. Usos de la prueba de IH.

Esta prueba se utiliza principalmente para:

- La identificación de un virus hemoaglutinante
- La identificación de anticuerpos contra un virus hemoaglutinante
- Para la titulación de dichos anticuerpos
- Para determinar las relaciones antigénicas existentes entre diferentes virus hemoaglutinantes aislados.

#### 3. Factores que influyen en el resultado de la prueba.

- PH
- Temperatura
- Concentración de cationes del diluyente
- Variación de la actividad hemoaglutinante de las diferentes lotes de virus
- Glóbulos rojos. Pueden no ser adecuados debido a variaciones individuales tales como edad, sexo, especie animal, etc...
- Almacenamiento de los glóbulos rojos.
- Presencia de inhibidores no específicos en los sueros (mucoproteínas séricas y extractos bacterianos "alfa, beta y gamma").

#### **4. Tratamiento del suero para destruir los inhibidores inespecíficos, antes de su empleo en las reacciones de IH.**

De acuerdo con la naturaleza de los inhibidores, el suero puede inactivarse con los siguientes tratamientos:

- Caolín
- Tratamiento a una temperatura de 56°C durante 30 minutos.

#### **5. Interpretación del título de inhibición de la hemoaglutinación de un suero, con fines diagnósticos.**

El título de IH de un suero, se calcula multiplicando el resultado inverso de la última dilución, en donde se observó inhibición de la hemoaglutinación (IHA), por la cantidad de unidades hemoaglutinantes (UHA) utilizadas en la prueba. El resultado será expresado en unidades inhibidoras de la hemoaglutinación (UIHA).

### **INHIBICIÓN DE LA HEMOAGLUTINACIÓN CON EL RVP/LPM**

#### **Preparación de las alícuotas.**

- Colocar en tubos estériles 0.2 ml de cada suero problema, previamente homogenizado en un agitador (vortex).
- Inactivar las muestras en un baño de María, durante 30 minutos, a 56°C.
- Agregar 0.1 ml de glóbulos rojos de pollo previamente lavados con PBS.
- Agregar 0.1 mg de caolín a cada alícuota.
- Colocar las alícuotas en el mezclador, durante 1 hora
- Refrigerar las alícuotas (4°C) por 12 horas.

## **Procedimiento.**

- A los sueros con caolín ya reposados , se les agregan 0.8 ml de PBS a cada tubo, para obtener una dilución 1:5
- Centrifugar a 1500 rpm durante 10 minutos y luego decantar a otro tubo para separar el sobrenadante, desechando lo demás. Si en el suero quedasen residuos de caolín y/o glóbulos rojos se vuelve a centrifugar, igual que la primera vez.
- Se utilizan placas de 96 micropozos poliestireno de fondo en U.
- Se agregan 25  $\mu$ l de solución salina a todos los pozos, excepto a los de la línea A.
- Se agita el suero con el "vortex", antes de ponerlo en la microplaca. Con una pipeta de volumen variable, agregar 25  $\mu$ l del suero mantenido, a todos los pozos de las líneas A, B y H; se utilizan dos columnas de pocitos para cada suero en estudio. Los pozos de la línea H sirven como controles del suero.
- Hacer diluciones a partir de la línea B, ante la línea de pozos G, con los microdilutores de 25  $\mu$ l, previamente quemados y enfriados. Luego de usarlos se ponen en agua destilada y después se queman al rojo vivo.
- Agregar 25  $\mu$ l de antígeno (Contenido de 4 a 8 UHA) a todos los pozos, excepto a los de la línea H.
- Incubar a temperatura ambiente (aproximadamente a 20°C) durante una hora.
- Agregar a cada pozo 50  $\mu$ l de glóbulos rojos de pollo, suspendido al 0.5% en solución salina.
- Incubar a temperatura ambiente (aproximadamente a 20°C) durante 40 minutos y proceder a hacer la lectura.

## APÉNDICE 2

### ABREVIATURAS EMPLEADAS EN ESTE TRABAJO

ACS.....	anticuerpos
DTD.....	dimensiones testiculares diarias
ECP.....	efecto citopático
ELISA.....	ensayo inmunoabsorbente ligado a una enzima
EOA.....	Enfermedad del ojo azul
F.....	proteínas de fusión
GCN.....	Grupo Control Negativo
GCNVD.....	Grupo Control no Vacunado y si Desafiado
GVND.....	Grupo Vacunado no desafiado
GVD.....	Grupo Vacunado y Desafiado
gp.....	glicoproteínas
HN.....	hemoaglutinina-neuraminidasa
IH.....	inhibición de la hemaglutinación
IM.....	intramuscular
IN.....	intranasal
L.....	proteína de alto peso molecular
LPM.....	La Piedad Michoacán
M.....	proteína matriz
Mrad.....	Megarrads
NP.....	nucleoproteína.
OCD.....	observaciones clínicas diarias
P.....	fosfoproteína
PD.....	después del desafío
PI.....	posinfección
PV.....	posvacunación
RVP.....	<i>Rubulavirus porcino</i>
SN.....	seroneutralización
UHA.....	unidades hemohaglutinantes

VERO.....células de riñón de mono verde africano  
vs.....contra

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**