



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**IDENTIFICACIÓN DE FACTORES DE RIESGO PARA LA PRESENTACIÓN DEL
RUBULAVIRUS PORCINO EN EL BAJÍO MEXICANO**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

PRESENTA:

LOURDES MARION GALINDO CASTAÑEDA

TUTOR PRINCIPAL: DR. JOSÉ IVAN SÁNCHEZ BETANCOURT
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA, UNAM

COMITÉ TUTORAL: DRA. MARÍA ELENA TRUJILLO ORTEGA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA, UNAM
DR. HECTOR CASTILLO JUÁREZ
PROGRAMA MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

MÉXICO, D.F.

MAYO 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico a mi madre Blanca Castañeda por ser el pilar en mi vida, mi ejemplo, mi compañera de aventuras y la persona que más amo.

A Blanquis, la vida te puso como mi hermana y yo te elegí como mi mejor amiga y confidente.

A mi papá Raúl por que pase lo que pase siempre estás orgulloso de mí.

Gracias por confiar en mí.

AGRADECIMIENTOS

A mi tutor, el Dr. José Ivan Sánchez Betancourt por abrirme las puertas al mundo de los cerdos, por orientarme y por la confianza que demostró en mí.

A mi comité tutorial, la Dra. María Elena Trujillo Ortega y el Dr. Héctor Castillo Juárez, por brindarme su tiempo, dedicación y consejos.

Al MVZ. José Carlos Rosales, por su apoyo, paciencia y dedicación en la revisión de este trabajo.

A mi jurado, Dra. Susana Mendoza, Dr. José J. Martínez Maya, Dr. Humberto Ramírez y M.C. Atalo Martínez Lara por mejorar la calidad de este trabajo gracias a sus recomendaciones.

Al Comité de fomento y protección pecuaria del estado de México, en especial a la MVZ. Alicia Valadez, el MVZ. Fernando de la Cruz y al MVZ. Camilo Pérez, por su apoyo en la recolección de muestras y cuestionarios. Al M. C. Atalo Martínez Lara y al MMVP Víctor Quintero por apoyarme y ayudarme a conseguir muestras para la elaboración de este trabajo. Por ustedes fue posible terminar este proyecto.

A la M.C. Carmen Mercado por ser mi guía en el laboratorio y tenerme tanta paciencia y a Adriana por ayudarme.

A mi “sensei” en la epidemiología MVZ. Alejandra León gracias por esas clases maravillosas.

A mi tío Alejandro, mi cuñado y mi Ange por estar al pendiente de mí y quererme.

A Kary, Ari y Aliz, mis tres mejores amigas, mis confidentes, mis almas gemelas y el ying de mi yang. En especial a Aliz que me acompañaste en gran parte del camino y sabes lo que costó.

A los amigos del departamento de cerdos Brenda, Juanito, Lino y Paulina, por su amistad y ayuda. A los nuevos amigos de virología en especial a Tere por creer en mí.

Finalmente al área de Posgrado de la FMVZ, de ciencias de la producción y de la salud animal y al Consejo nacional de ciencia y tecnología (CONACyT) por la orientación y el apoyo a estudiantes que desean hacerse camino en el área de la ciencia.

RESUMEN

La enfermedad de ojo azul es causada por el Rubulavirus porcino, el cual es endémico en México, pertenece a la familia Paramixoviridae la cual abarca un grupo de virus pleomórficos de 180-300 nm de diámetro (Moreno López *et al.*, 1986), tiene gran similitud con el virus de la parotiditis humana y el virus Menangle. El *Rubulavirus* porcino se identificó inicialmente en granjas de La Piedad Michoacán, en 1980 (Stephano *et al.*, 1981), su presentación era predominantemente nerviosa con una mortalidad que alcanzaba 90%, de ahí se diseminó en pocos años a 16 estados de la República, principalmente en el centro y noreste (Fuentes *et al.*, 1992). Actualmente, el mayor impacto económico se encuentra en los estados de Michoacán, Guanajuato y Jalisco, esta zona se encuentra considerada como endémica (Stephano, 1999). El objetivo del estudio fue identificar posibles factores de riesgo asociados al manejo de las unidades de producción porcina. Se evaluaron mediante un cuestionario 23 granjas, 14 negativas a la enfermedad de ojo azul y 9 positivas. Por medio de la prueba exacta de Fisher se obtuvieron las variables que presentaban asociación y con la razón de momios se midió el grado de esta. Posteriormente se elaboró una regresión logística para eliminar los factores de confusión. Finalmente se encontró que la variable número de animales en la granja presentó una asociación estadística significativa con la enfermedad de ojo azul, siendo las granjas a gran escala las más propensas a presentar la enfermedad. Concluimos con el análisis de la información que las unidades de producción porcina a gran escala tienen mayor riesgo de presentar enfermedades como el ojo azul, dicho riesgo es inherente al manejo que conllevan estas producciones.

ABSTRACT

Blue eye disease is caused by porcine *Rubulavirus*, which is endemic in Mexico, this virus belongs to the Paramyxoviridae family which encompasses a group of pleomorphic viruses 180-300 nm in diameter (Moreno Lopez *et al.*, 1986), it has similarity to human mumps virus and Menangle virus. Porcine *Rubulavirus* was initially identified on farms in La Piedad Michoacan, in 1980 (Stephano *et al.*, 1981), its presentation was predominantly nervous with a mortality rate reaching 90%, from there it spread in a few years to 16 Mexican states mainly in the center and northeast (Fuentes *et al.*, 1992). Currently, the economic impact is greater in the states of Michoacan, Guanajuato and Jalisco, this area is considered endemic (Stephano, 1999). The aim of the study was to identify possible risk factors associated with the management of pig production units. They were evaluated by a questionnaire applied to 23 farms, 14 negative blue eye disease and 9 positive. Through Fisher's exact test, variables that presented association were detected and with the odds ratio the extent of this was measured. Subsequently, logistic regression was developed to eliminate confounding factors. Finally it was found that the variable number of animals on the farm presented a statistically significant association with the disease of blue eye, large-scale farms are more likely to have the disease. We conclude with an analysis of the information that the management on large-scale swine production increased the risk of diseases such as blue eye, which risk is inherent in the management involved in these kind of productions.

ÍNDICE

	Página
Dedicatoria	II
Agradecimientos	III
Resumen	V
Abstract	VI
Índice	VII
Lista de cuadros	IX
Abreviaturas	XI
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Antecedentes	1
1.2 Agente etiológico	2
1.2.1 Características del virus	4
1.2.2 Ciclo biológico	5
1.3 Signos clínicos	6
1.4 Patogenia	7
1.4.1 Lesiones macroscópicas	8
1.4.2 Lesiones microscópicas	9
1.5 Respuesta inmune	10
1.6 Diagnóstico	11
1.7 Prevención y control	13
1.8 Factores de riesgo	15
1.8.1 Identificación de factores de riesgo	16
2. JUSTIFICACIÓN	18

3. HIPÓTESIS	18
4. OBJETIVO	18
5. MATERIAL Y MÉTODOS	19
5.1 Estudio epidemiológico	19
5.1.1 Método estadístico	19
5.2 Muestras para determinar la presencia o ausencia de la infección por <i>Rubulavirus</i> porcino	20
5.3 Elaboración de cuestionario y obtención de datos	21
5.4 Análisis de resultados	22
6. RESULTADOS	23
6.1 Análisis estadístico y epidemiológico	23
7. DISCUSIÓN	37
8. CONCLUSIONES	41
9. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS	42
10. ANEXOS	51

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Resultados de la fórmula de Cannon y Roe dependiendo de la población de cerdos en cada UPP	19
Cuadro 2. Cantidades necesarias para la adsorción (Protocolo del laboratorio de medicina y zootecnia de cerdos de la FMVZ- UNAM).	21
Cuadro 3. Estados de la república muestreados y número de Unidades de Producción Animal (UPP) positivas a ojo azul.	23
Cuadro 4. Razón de momios (RM), valor de P e intervalo de confianza (IC 95%) de variables de manejo de una unidad de producción animal (UPP) con respecto a la presencia de la infección ojo azul.	24
Cuadro 5. Razón de momios (RM), valor de P e intervalo de confianza (IC 95%) de variables de tamaño de hato con respecto a la presencia de ojo azul.	25
Cuadro 6. Razón de momios (RM), valor de P e intervalo de confianza (IC 95%) de las variables productivas analizadas con respecto a la presencia de ojo azul.	26
Cuadro 7. Razón de momios, valor de P e intervalo de confianza (IC 95%) de variables asociadas a la genética de la granja con respecto a la presencia de ojo azul.	26
Cuadro 8. Razón de momios (RM), valor de P e intervalo de confianza (IC 95%) de porcentajes de mortalidad en las diferentes áreas de producción con respecto a la presencia de ojo azul.	27
Cuadro 9. Razón de momios (RM), valor de P e intervalo de confianza (IC 95%) de medidas de bioseguridad con respecto a la presencia de ojo azul.	28
Cuadro 10. Razón de momios (RM), valor de P e intervalo de confianza de variables de diagnóstico clínico con respecto a la presencia de ojo azul (OA).	30
Cuadro 11. Riesgo atribuible de las variables con asociación	32

estadística con OA y RM no definida.

Cuadro 12. Razón de momios y valor de P para la variable “fin zootécnico” con respecto a la presencia de EOA. 33

Cuadro 13. Razón de momios y valor de P para la comparación de niveles de la variable “número de hembras” con respecto a la presencia de EOA. 34

Cuadro 14. Razón de momios y valor de P para la comparación de niveles de la variable “fin zootécnico” con respecto a la presencia de EOA. 35

Cuadro 15. Razón de momios y valor de P para comparación de niveles de la variable “número de hembras” con respecto a la presencia de EOA. 36

Cuadro 16. Razón de momios y valor de P para la comparación de niveles de la variable “PRRS” con respecto a la presencia de ojo azul. 36

ABREVIATURAS

ARN Ácido ribonucleico

DMZP Departamento de medicina y zootecnia porcina

ELISA Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas

EOA Enfermedad de ojo azul

F Proteína de fusión

FMVZ Facultad de medicina veterinaria y zootecnia

HN Hemaglutinina- neuraminidasa

IC Intervalo de confianza

IH Inhibición de la hemaglutinación

IFI Inmunofluorescencia indirecta

L Proteína polimerasa

M Proteína de matriz

Mab Anticuerpos monoclonales

MHC Complejo mayor de histocompatibilidad

ND No definido

OA Ojo azul

OA+ Unidades de producción positivas a ojo azul

ORF Marco de lectura abierto

P Fosfoproteína

PCV2 Circovirus porcino tipo 2

PRRS Síndrome respiratorio y reproductivo del cerdo

RA Riesgo atribuible

RM Razón de momios

RR Riesgo relativo

UH Unidades hemaglutinantes

UPP Unidades de producción porcina

VN Virus sueroneutralización

I. Introducción

1.1 Antecedentes de la enfermedad de ojo azul.

La enfermedad de ojo azul (EOA) es causada por el *Rubulavirus* porcino, el cual es endémico en la zona centro occidente de México, pertenece a la familia *Paramixoviridae* la cual abarca un grupo de virus pleomórficos de 180-300 nm de diámetro (Moreno-López *et al.*, 1986), tiene gran similitud con el virus de la parotiditis humana y el virus Menangle (Mackenzie *et al.*, 2001).

En México, el *Rubulavirus* porcino se identificó inicialmente en granjas de La Piedad Michoacán, en 1980 (Stephano *et al.*, 1988), su presentación era predominantemente nerviosa con una mortalidad que alcanzaba 90%, de ahí se diseminó en pocos años a 16 estados de la República, principalmente en el centro y noreste (Fuentes *et al.* 1992). Actualmente, el mayor impacto económico afecta a los estados de Michoacán, Guanajuato y Jalisco; zona considerada como endémica (Stephano, 1999).

En 1983, en un brote de *Rubulavirus* en cerdos de 15 a 45 kg, se observaron signos de encefalitis, tos, disnea, estornudos y una mortalidad de 30%. Además se observaron parámetros reproductivos afectados como el porcentaje de repeticiones, mortinatos y fetos momificados (Stephano, 1984).

Hasta finales de los ochentas, se observó que los sementales infectados presentaban baja concentración de espermatozoides, decremento en la motilidad y viabilidad espermática. También se encontraron sementales con orquitis unilateral o bilateral, con posterior atrofia testicular (Stephano *et al.*, 1990; Díaz, 2005).

La enfermedad de ojo azul (EOA) es frecuentemente asociada con otras infecciones. Se ha identificado que los brotes de la EOA en presencia del síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRS por sus siglas en ingles), presentan signos clínicos más severos que los asociados generalmente a estos agentes por sí mismos. (Stephano, 1998).

En el año de 2004, se realizó un estudio donde se encontraron 18 estados con una seroprevalencia del 10 al 30% (Milián *et al.*, 2004). Actualmente se reporta como una enfermedad que permanece endémica en la región centro occidente de México y es considerada una de las cuatro enfermedades virales más importantes en la industria porcícola mexicana, debido a las pérdidas económicas que ocasiona (Escobar-López *et al.*, 2012; Kirkland y Stephano, 2006). Ocasionalmente, se han encontrados animales seropositivos en otras áreas, pero sin la presencia de casos clínicos (Carreón y Fuentes, 1989; Correa *et al.*, 1998; Fuentes *et al.*, 1992).

Recientemente, se aisló el virus del ojo azul en cerdos de los estados de Guanajuato, Michoacán y Querétaro, esto a partir de cerdos en etapa de crecimiento y engorda; en los cuales se observaron signos como retraso en el crecimiento y problemas respiratorios (Martínez *et al.*, 2014)

1.2 Agente etiológico.

En 1986 se estableció con base en microscopia electrónica y la comparación de perfiles proteicos, que se trataba de un *Paramixovirus* o un virus relacionado a este (Moreno-López *et al.*, 1986). No fue sino hasta 1991, que después de clonar la proteína Matriz y secuenciarla, se determinó que la mayor similitud se hallaba con los virus de las paperas (Berg *et al.*, 1992).

Los *Paramixovirus* se encuentran divididos en 2 subfamilias y 7 géneros. Existen 5 géneros en la subfamilia *Paramixoviridae*: *Avulavirus*, *Henipavirus*, *Moirbilivirus*, *Respirovirus* y *Rubulavirus*, los cuales producen importantes problemas en la salud humana y animal, entre los cuales se encuentran el sarampión, parainfluenza, parotiditis humana, la enfermedad de Newcastle y el moquillo canino (Rima *et al.*, 1995).

El *Rubulavirus* porcino posee un alto grado de homología estructural y genética con el virus de la parotiditis humana, por lo que también provoca lesiones en el sistema nervioso central de cerdos neonatos y en el aparato reproductivo de cerdos adultos. Sin embargo, este virus no presenta reacción cruzada con el virus de la parotiditis humana, ni con los virus de parainfluenza, de la

enfermedad de Newcastle, del sarampión ni el virus sincitial respiratorio (Moreno – López *et al.*, 1986).

Los *Rubulavirus* son virus ARN de cadena negativa sencilla, de forma esférica y 180 a 300 nm de diámetro, con una nucleocápside semejante a una hélice o espiral, contenida dentro de una membrana lipoproteica proveniente de la célula huésped.

El genoma completo del Rubulavirus porcino contiene 15,193 nucleótidos de longitud (Linné *et al.*, 1992).

Están constituidos por seis proteínas estructurales: la polimerasa o proteína de alto peso molecular (L), la nucleoproteína (NP), la fosfoproteína (P), la proteína matriz (M) y dos glicoproteínas, la hemaglutinina-neuraminidasa (HN) y la glicoproteína de fusión (F) (Morrison y Portner, 1991; Lamb y Kolakofsky, 1996).

Las glicoproteínas HN y F son de transmembrana con dominios activos en el exterior del virión. La glicoproteína HN reconoce el receptor y es responsable de la adhesión a las células blanco. Esta proteína tiene actividad hemaglutinante y promotora de fusión; forma dímeros y tetrámeros que exponen sitios de unión al receptor celular sobre la membrana viral. Aglutina eritrocitos de especies como el cerdo, vaca, perro, conejo, ratón, rata, hámster, cobayo, pollo y humanos; esto debido al reconocimiento específico de ácidos siálicos expresados en la superficie de estos eritrocitos (Stephano *et al.* 1988; Ramírez *et al.*, 1996). La proteína HN se une específicamente a los residuos NeuAc α 2,3 que se encuentran en células susceptibles (Reyes-Leyva *et al.*, 1997; 1999).

La glicoproteína F tiene un dominio hidrofóbico y participa en la fusión de la membrana celular y la envoltura viral, lo que permite que el virus se introduzca al citoplasma y se disemine de célula a célula sin estar en contacto con el medio extracelular (Morrison y Portner, 1991).

Las unidades de NP forman parte integral de la nucleocápside; cada NP se enlaza a seis nucleótidos inmediatamente después de la síntesis de ARN genómico y lo rodean en su contorno helicoidal sin separarse durante la

replicación ni la transcripción. A la nucleocápside se asocian aproximadamente 50 complejos con actividad de polimerasa, que se encargan de la transcripción y replicación del genoma viral. Cada uno de estos complejos está formado por 3 unidades de proteína P (P3) y una de proteína L, también pueden presentarse el mismo número de proteínas P sin la proteína L; el gen P puede dar origen a 4 productos: P, V, I y C (Berg *et al.*, 1992). El gen completo de la proteína NP abarca 1,783 nucleótidos, el marco de lectura abierta (ORF) codifica para una proteína de 545 aminoácidos.

La proteína L posee el mayor peso molecular y lleva a cabo actividades catalíticas en la síntesis de ácido ribonucleico (ARN) genómico y mensajero (Svenda *et al.* 1997), actividades de metiltransferasa, de cinasa y de poliadenil sintetasa. Esta proteína guarda homología en función con la proteína L del virus de la estomatitis vesicular, lo que sugiere que estas podrían tener las mismas funciones en el ciclo completo de replicación en el citoplasma, sin la necesidad de ingresar al núcleo.

El gen de la proteína de M contiene 1,376 nucleótidos de longitud, mientras que el marco de lectura abierto (ORF por sus siglas en inglés) de este es de 1,107 nucleótidos de longitud que codifica para una proteína de 369 aminoácidos (Berg *et al.* 1991).

1.2.1 Características del virus.

Se han empleado diversas células para la replicación del *Rubulavirus* porcino, entre las cuales se encuentran: a) de origen porcino (cornete nasal, testículo, cultivo de riñón, IBRs, PK-15A, PK-15B, plexo coroideo), b) de origen símico (vero, GMK), c) de origen bovino (cornete nasal, testículo, tiroides, riñón, embrión, piel, plexo coroideo y paladar). (Moreno-López *et al.* 1986; Stephano y Gay, 1985)

Entre sus propiedades fisicoquímicas destaca su posibilidad de hemaglutinar eritrocitos de cerdo, pollo, gallina, bovino, caballo, cobayo, rata, ratón, perro, gato, hámster, conejo, oveja, cabra, pavo y humano. Igualmente, el virus del ojo azul posee actividad hemoadsorbente ante eritrocitos de las especies antes señaladas. (Moreno-López *et al.*, 1986; Stephano y Gay, 1985)

Estudios anteriores identificaron diversas variantes patogénicas del *Rubulavirus*, de acuerdo a este se definieron tres grupos virales con base en las alteraciones registradas y a la edad de la población más afectada. En el grupo uno, se presentaron alteraciones neurológicas en lechones, en este grupo se encuentran los virus LPM, POA y POA-2. En el grupo dos, se encuentran los virus PAC1, PAC4 y PAC5, en este grupo los animales presentan alteraciones neurológicas en cerdos de 3-4 meses, alta mortalidad en lechones y fallas reproductivas en machos adultos. El grupo tres está compuesto por los virus PAC2 y PAC3 ocasionando algunas manifestaciones neurológicas en lechones y problemas reproductivos en adultos. Se consideran al PAC1, PAC4 y PAC5 como las variantes del virus más virulentas, ya que se aislaron de brotes con altos niveles de mortalidad (Escobar *et al.*, 2012). En cultivo celular se identificó al PAC3 como la variante más virulenta, debido a que es liberada de la célula más rápidamente y en consecuencia se dispersa con mayor facilidad para infectar otras células (Santos, 2000),

1.2.2 Ciclo biológico.

La partícula viral se adsorbe en la membrana de la célula hospedera por medio de la proteína HN, que reconoce como receptor específico un oligosacárido. Posteriormente se lleva a cabo un cambio conformacional de la HN, el cual activa la proteína F y ésta genera la fusión de las membranas celular y viral, lo que provoca la liberación del ARN viral en el citoplasma. Por una parte comienza la síntesis de ARN antígenómico (cadena complementaria del genoma), la cual dará origen a genomas nuevos y por otra parte comienza la producción de ARN mensajero, que va a codificar a las proteínas virales NP, M, L y P. Estos productos de la traducción se dirigen al sitio de ensamble, en donde son acopladas al ARN que se acaba de sintetizar con excepción de la proteína M, la cual se ubica en la parte interna de la membrana celular. Las glicoproteínas HN y F que fueron sintetizadas en el retículo endoplásmico, posteriormente son modificadas en el aparato de Golgi y expresadas en la membrana citoplasmática en contacto con la proteína M. La afinidad de las proteínas NP, P y L con las proteína de matriz y de esta con las glicoproteínas es determinante para el ensamble del virión, el cual es liberado de la célula por exocitosis (Lamb y Kolakofsky, 1986; Reyes – Leyva *et al.*, 2002).

Estos virus pueden infectar las células inmediatamente vecinas a través de la fusión membranal célula – célula, debido a la expresión de las proteínas virales en la membrana de la célula hospedera.

1.3 Signos clínicos

Los signos clínicos varían de acuerdo a la edad de los animales, en granjas de ciclo completo pueden comenzar en cualquier grupo de cerdos, pero más comúnmente se observa por primera vez en las instalaciones de maternidad, donde se nota una alta mortalidad en los lechones de 2 a 15 días de edad, con manifestaciones nerviosas en forma progresiva y aguda tales como ataxia, debilidad, rigidez principalmente en miembros posteriores, temblores musculares y posturas anormales (Stephano y Gay, 1985), debido a los signos nerviosos la enfermedad de ojo azul se confundía con la enfermedad de Aujeszky (Stephano, 2000).

Cuando la enfermedad comienza se puede observar fiebre, pelo erizado y lomo arqueado, a veces acompañado de estreñimiento o diarrea; posteriormente se presentan signos nerviosos como ataxia, debilidad, rigidez principalmente en los miembros posteriores, temblores musculares y posturas anormales. Otros signos incluyen hiperexcitabilidad de los lechones, letargo con movimientos involuntarios, pupilas dilatadas, conjuntivitis, párpados inflamados y lagrimeo. Además de opacidad corneal en el 10% de los casos, con frecuencia la opacidad corneal se produce en ausencia de otros signos aparentes. (Stephano *et al.*, 1988; Stephano, 2000; Stephano, 2002).

Del número de lechones paridos durante un brote, del 20% al 65% se ven afectados por el *Rubulavirus* porcino. La mortalidad dentro de las camadas es típicamente del 87 al 90% la cual aumenta dentro de las 2 y 9 semanas después del primer caso.

En cerdos de 3 a 4 meses de edad, las manifestaciones neurológicas son escasas y la tasa de mortalidad es baja. Algunos signos que pueden presentar son anorexia, fiebre, estornudos y tos. Se llega a reportar opacidad corneal entre 1 y 4% de los cerdos en esta etapa (Stephano *et al.*, 1984).

En los cerdos adultos las alteraciones se limitan al aparato reproductor, en el caso de las hembras gestantes la falla reproductiva puede durar de 2 a 11 meses, algunos indicadores pueden incluir un número elevado de hembras con retorno al estro, reducción en la tasa de partos, un aumento en el intervalo de destete a servicio y de los días no productivos de la cerda. Además se presenta disminución del número de lechones nacidos vivos, aumento en el número de fetos momificados y mortalidad en lechones (Stephano, 2000).

En los machos se observa epididimitis, orquitis, atrofia testicular y algunos machos con lesiones severas llegan a perder la libido. La calidad del semen puede cambiar con una moderada disminución en la motilidad, viabilidad y concentración de espermatozoides. También se puede desarrollar una azospermia o necropermia (Campos y Carbajal, 1989; Stephano *et al.*, 1990).

Stephano y Gay en 1985, encontraron algunos patógenos asociados a la EOA, incluyendo al virus de la enfermedad de Aujeszky, *Actinobacillus pleuropneumoniae* y *Mycoplasma spp.* (Stephano y Gay, 1985).

1.4 Patogenia

La transmisión del virus es de forma horizontal por inhalación de microgotas contaminadas cuando éste se está eliminando por descargas nasales (Collier y Oxford, 2000). Cuando las gotas inhaladas son pequeñas el virus ingresa hasta el interior del pulmón por medio de la inspiración. En caso de que las gotas sean grandes estas se quedan atrapadas en la mucosa oronasal, también de forma vertical *in útero*. (Stephano *et al.*, 1998 y Allan *et al.*, 1996)

Los sitios iniciales de replicación son la mucosa nasal y las tonsilas desde donde se disemina rápidamente a pulmón y de ahí hacia todo el organismo por vía sanguínea. El virus puede ingresar al sistema nervioso por las terminaciones nerviosas en la porción olfatoria, por donde asciende a los lóbulos olfatorios y al hipocampo, de aquí se disemina a tallo cerebral y cerebelo (Allan *et al.*, 1996; Reyes – Leyva *et al.*, 1997).

En cerdos infectados experimentalmente se puede aislar el virus de cerebro, pulmón, tonsilas, hígado, vejiga, riñón, cornetes, nódulos linfáticos mesentéricos, corazón y sangre (Stephano y Gay, 1983, 1985).

En la fase de viremia, el virus se transporta asociado a los eritrocitos y monocitos, lo que permite una infección sistémica y su replicación en sitios como los órganos linfáticos y reproductores. (García, 1999; Hernández *et al.*, 1998)

El tropismo del virus en los lechones es hacia el sistema nervioso central y pulmones, esto es debido a la alta cantidad de ácido siálico en este tejido, que es el receptor específico del *Rubulavirus* porcino. (Reyes-Leyva *et al.*, 1993)

1.4.1 Lesiones macroscópicas.

La lesión característica de la enfermedad es la opacidad corneal, generalmente es unilateral, pero en ocasiones se puede presentar de forma bilateral. También se observa edema corneal en cerdos destetados o en engorda y la formación de una vesícula o úlcera en la capa externa de la córnea. En algunas ocasiones, también se observa queratocono. La córnea se puede observar de una a tres veces mayor de su espesor normal (Stephano y Gay, 1985, 1986; Stephano *et al.*, 1988).

A la necropsia, se puede observar a los lechones emaciados, presentando congestión pulmonar, neumonía en bordes ventrales de los lóbulos craneales pulmonares, falta de colapso pulmonar, distensión gástrica y acumulación de leche, se observa distensión de la vejiga debido a la acumulación de orina y una ligera presentación de líquido en la cavidad peritoneal. Se puede presentar congestión cerebral y aumento del líquido cefalorraquídeo. Ocasionalmente se encuentran hemorragias en pericardio y en riñón. (Stephano, 2000)

En los sementales se ven afectados los testículos presentando orquitis y posteriormente atrofia, generalmente unilateral. En los testículos se observa edema generalizado, fibrosis, granulomas y necrosis focal; en el epidídimo se puede observar edema e inflamación a nivel de la cabeza, además de estructuras quísticas (Campos *et al.*, 1989).

1.4.2 Lesiones microscópicas.

A la histopatología la córnea presenta diversos grados de neutrófilos e infiltración mononuclear en el endotelio vascular y los tejidos adyacentes. En células de la capa externa de la córnea se puede encontrar la formación de una vesícula citoplasmática y una con separación de las capas de la que se originan las vesículas (Pérez *et al.*, 1988; Stephano y Gay, 1986; Stephano *et al.*, 1988).

Los cambios histológicos en el cerebro y la médula espinal son compatibles con una encefalitis no supurativa, afectando principalmente la materia gris del tálamo y la corteza cerebral, también observándose gliosis multifocal. Hay infiltración perivascular con linfocitos, células plasmáticas y células reticulares, con necrosis neuronal, meningitis y coroiditis. Se han observado cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos dentro de las células neuronales (Allan *et al.*, 1996; Ramírez y Stephano, 1982; Stephano y Gay, 1986; Stephano y *et al.*, 1988).

Los pulmones pueden mostrar áreas multifocales con neumonía intersticial, engrosamiento de los septos e infiltración mononuclear. Muchos cerdos afectados tienen una inflamación de las tonsilas moderada con descamación epitelial y células inflamatorias en las criptas.

Los verracos afectados presentan lesiones testiculares de diferente tipo y grado, esto depende de la evolución clínica de la enfermedad. El tejido intersticial puede mostrar hiperplasia de células de Leydig, infiltración de células mononucleares, hialinización de las paredes vasculares y fibrosis. En el epitelio germinal se pueden observar áreas de degeneración y necrosis.

Se puede presentar ruptura de las paredes epiteliales lo que conduce a fuga de los espermatozoides en los espacios intertubulares, a la infiltración de células inflamatorias y macrófagos, y en consecuencia a la fagocitosis de los espermatozoides (Ramírez *et al.*, 1997; Stephano *et al.*, 1990).

1.5 Respuesta inmune

Las proteínas HN y F son proteínas transmembranales glicosiladas, las cuales están implicadas en la fijación del virus a las células y en la fusión de las membranas celulares. Durante la infección los virus de la familia *Paramyxoviridae* producen anticuerpos contra las proteínas internas y externas. Sin embargo, sólo los anticuerpos para las proteínas HN y F han demostrado ser importantes en la obtención de una respuesta neutralizante del virus. La HN induce anticuerpos neutralizantes más eficientes, aunque la mejor respuesta protectora se consigue si los anticuerpos están dirigidos hacia ambas proteínas (Norrby *et al.*, 1975; Paterson *et al.*, 1987; Spriggs *et al.*, 1988).

Los anticuerpos y los linfocitos T son los principales sistemas efectores para resolver la infección viral.

La respuesta humoral inicia con la producción de anticuerpos desde la primera semana posinfección. Durante las primeras 4 semanas, los títulos se incrementan entre 4 y 6 log₂. A partir de la quinta semana llegan a incrementarse hasta 8.5 unidades logarítmicas. En animales infectados adultos se observan altos títulos de anticuerpos neutralizantes y que inhiben la hemaglutinación (segunda semana posinfección). Los anticuerpos reconocen específicamente las proteínas HN, M y NP del *Rubulavirus* porcino. Los anticuerpos son capaces de reconocer al virus en forma libre o células infectadas por el virus, ellos controlan las infecciones neutralizando las partículas virales o produciendo la muerte de las células infectadas a través de citotoxicidad mediada por complemento o por células citotóxicas (Hernández *et al.*, 1998, Zenteno-Cuevas, 1997).

La inmunidad humoral puede transmitirse de la madre a los hijos al vacunar a las cerdas en gestación, estos anticuerpos adquiridos pasivamente de la madre, a través de la placenta o al consumir el calostro y la leche, reducen los índices de morbilidad y mortalidad en los lechones y pueden controlar la infección (Hernández *et al.*, 1992).

En la infección natural se han encontrado anticuerpos hasta 18 meses después de presentados los signos clínicos de la enfermedad (Stephano *et al.*, 1988).

Se han encontrado que las diferentes cepas del *Rubulavirus* porcino que circulan en el país poseen diferencias antigénicas que les permiten evadir la respuesta inducida por algún otro serotipo viral, lo que explica que hasta el momento no se ha producido una vacuna suficientemente efectiva para controlar las infecciones en campo. (Reyes- Leyva *et al.*, 2002)

La respuesta inmune celular hacia el *Rubulavirus* porcino inicia en la primera semana con un aumento en el número de linfocitos T citotóxicos (CD8+). (Ramírez H *et al.*, 1997). Los linfocitos CD4+ se van a transformar en linfocitos CD4+CD8+, los cuales van a responder de forma específica al *Rubulavirus* porcino al convertirse en células de memoria productoras de citocinas de tipo 2, primordialmente interleucina 10. (Hernández *et al.*, 2001)

En el caso de las células T, estas sólo pueden reconocer al antígeno en la superficie de células presentadoras y en asociación con las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) del hospedero. En consecuencia, los linfocitos T no son capaces de reconocer virus libre y su actividad inmune está confinada a las células infectadas. (Ahmed y Biron, 1999).

1.6 Diagnóstico

De forma clínica podemos sospechar de la enfermedad de ojo azul, si observamos signos nerviosos y respiratorios en lechones, fallas reproductivas en hembras y machos y opacidad corneal en cualquier edad, si presenta alguno de estos signos se debe realizar un diagnóstico diferencial con enfermedades como Aujeszky (Morilla *et al.*, 2000).

El diagnóstico se puede realizar de forma serológica con pruebas como la inhibición de la hemaglutinación (IH), virus seroneutralización (VN), ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA por sus siglas en ingles) e inmunoperoxidasa, todas las pruebas detectan seroconversión a los 8 días post infección (Gay, 1989; Díaz, 1989).

Estudios de sensibilidad de las pruebas demostraron que las mejores pruebas son la seroneutralización y el ELISA; y que la inhibición de la hemaglutinación

puede emplearse como prueba de piara, ya que detecta a un porcentaje pequeño de falsos positivos (Gay, 1989; Díaz, 1989).

Un estudio comparativo de estas cuatro técnicas para la detección de anticuerpos para la EOA fue realizado en 1997, donde se encontró que las cuatro pruebas tienen ventajas y desventajas. La prueba IH es considerada barata y rápida, pero da resultados falsos negativos en diluciones bajas. Los ensayos de inmunofluorescencia indirecta (IFI) y VN son laboriosos y requieren de entrenamiento para realizarlas y analizar los resultados. La ELISA indirecta tiene la ventaja de ser una prueba barata, rápida y fácil de interpretar, pero con frecuencia se unen los anticuerpos anticerdo no específicos en las reacciones, lo que complica la interpretación de los resultados (McNeilly *et al.*, 1997).

El diagnóstico también puede realizarse en correlación con el hallazgo de lesiones histológicas como encefalitis no supurativa, uveítis anterior, queratitis, orquitis y epididimitis, y por la presencia de inclusiones intracitoplasmáticas en neuronas y epitelio corneal.

Se puede basar el diagnóstico en la detección de virus por medio de su aislamiento, inmunoflorescencia indirecta, o por la observación en tejidos infectados empleando microscopia electrónica. Para los aislamientos virales las líneas celulares más utilizadas son: Vero (riñón de mono verde africano), PK – 15 (riñón de cerdo), ST (testículos de cerdo), MDBK (riñón bovino Madin Darb) y BHK – 21 (riñón de hámster lactante) (Reyes – Leyva *et al.*, 2004).

En el año de 1999, se creó una B-ELISA contra el *Rubulavirus porcino*, dicha prueba se basa en anticuerpos monoclonales (Mab) contra la glicoproteína HN (Nordengrahn *et al.*, 1999).

En diversos estudios se ha demostrado que la prueba de B-ELISA tiene una sensibilidad del 99% y una especificidad del 97% (McNeilly *et al.*, 1997; Ramírez *et al.*, 1997)

1.7 Prevención y control

No existe un tratamiento específico para esta enfermedad, los animales con lesiones nerviosas generalmente mueren, mientras que los que presentan opacidad corneal suelen recuperarse espontáneamente.

Para el control o eliminación del virus se deben llevar a cabo acciones como: cuarentena de cerdos nuevos, eliminar cerdos que presenten la signología clínica, no mezclar animales de diferentes corrales en pie de cría, evaluar a los sementales e implementar medidas de bioseguridad como cercas perimetrales, vestidores con diferentes áreas, control de plagas, etc. (Campos y Carbajal, 1989).

En el área de lactancia es necesario evitar estrés, reducir el manejo en animales, no mezclar lechones y mantenerlos a la temperatura adecuada. Es necesario manejar salas de “todo dentro – todo fuera” y en el cambio lavar y desinfectar las instalaciones (Campos y Carbajal, 1992). Se sabe que este virus se inactiva con agentes como el éter, formalina y beta propiolactona o a temperaturas de 56° C en un periodo de 4 horas (Taylor, 1999).

Para prevenir la enfermedad se han desarrollado vacunas y se han utilizado de dos tipos:

*Vacunas preparadas a partir de cerebros de cerdos, que mueren de forma aguda de la enfermedad, su eficacia aún se desconoce.

*Vacunas inactivadas, preparadas con virus cultivado en líneas celulares bajo condiciones experimentales (Zamora *et al.*, 1990).

Un estudio reportó una vacuna con *Rubulavirus* porcino inactivado, la cual protege hasta el 71% de los cerdos a través del calostro (Fuentes, 1993).

Los perfiles serológicos en las piaras porcinas han sido un método útil para determinar el patrón de infecciones dentro de los rebaños y el efecto de las intervenciones específicas sobre la circulación del virus, los cuales ayudan al control y manejo de la enfermedad dentro de las producciones porcinas. Dentro de las piaras, el perfil serológico se realiza mediante el muestreo de 10 cerdos

por estrato (edad: 15 días, y 1, 2, 3, 4, 5, y 6 meses, cerdas jóvenes y paridades 1, 2, 3, 4, y 5) (Martínez *et al.*, 1986; Morilla, 1997; Rosales *et al.*, 1987). Con este procedimiento, los animales del área endémica de la EOA fueron muestreados y los sueros diagnosticados por la prueba de IH. Los resultados mostraron tres tipos de presentación:

- (1) La más común fue la observación de cerdas infectadas, y de anticuerpos maternos presentes hasta 1 mes de edad, y los cerdos se infectaron después del destete, como se muestra por un aumento en cerdos seropositivos a partir de los 2 meses de edad. (Anexo 1)
- (2) En algunas granjas, casi el 100% de los cerdos eran seropositivos.
- (3) En el tercer patrón, se infectaron cerdas y los anticuerpos maternos se encontraron hasta el 3er mes de edad, después de lo cual los cerdos de la línea de producción permanecieron seronegativos, lo que indica que no había infección activa en esos grupos de edad.

Estos tres patrones serológicos fueron similares a los observados con el virus de la enfermedad de Aujeszky (Morilla *et al.*, 1995) y con el virus Menangle (Love *et al.*, 2000).

Se ha descrito la posible asociación de la EOA con otros patógenos, por lo que se realizó un muestreo serológico en 100 producciones porcinas con el modelo descrito por Diosdado *et al.*, en 1999. Cada muestra de suero se analizó para detectar anticuerpos contra los patógenos porcinos más comunes (PRRS, Influenza porcina, enfermedad de Aujeszky, gastroenteritis transmisible, parvovirus porcino, *leptospira interrogans* y la EOA)

Asociaciones significativas se observaron entre la EOA y la enfermedad de Aujeszky (OR = 4.11, 95% IC = 2,64, 6,41); influenza porcina (OR = 2,55, IC 95% = 1,02, 6,43); PRRS (OR = 2.31, IC del 95% = 1,45, 3,69); *L. icterohaemorrhage* (OR = 2.28, IC del 95% = 1,16, 4,5); y *L. bratislava* (OR = 2,1, IC del 95% = 1,11, 4,03). No había una asociación significativa entre la

EOA y el parvovirus porcino, la gastroenteritis transmisible y las otras serovariedades de *L. interrogans*.

Se concluyó en este estudio que la asociación entre la EOA y los patógenos existentes en las pjaras, no es un reflejo de sinergia; sin embargo, es un reflejo de la situación sanitaria general de las granjas en las que estaba presente la EOA. Por lo consiguiente se concluye que la infección por OA se ve agravada por la presencia de otros patógenos (Diosdado *et al.*, 2004)

1.8 Factores de riesgo

Desde principios del siglo XX en la medicina humana, se estableció la teoría donde las enfermedades infecciosas y no infecciosas estaban relacionadas con la presencia de múltiples factores. En consecuencia, se optó por el desarrollo de métodos para identificar los factores involucrados en diversas enfermedades, siendo actualmente técnicas epidemiológicas establecidas en la medicina veterinaria.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2015) un factor de riesgo es cualquier atributo, característica o exposición de un individuo que aumenta la probabilidad de desarrollar una enfermedad o lesión.

Con el estudio de los factores de riesgo actualmente se tiene conciencia de que las causas de una enfermedad pueden incluir factores sociales, económicos, políticos y geográficos (Hueston *et al.* 2001)

Para concluir que una variable de exposición (factor de riesgo hipotético) está relacionada a una variable de respuesta (enfermedad o lesión) se debe determinar una asociación entre ellas. Existen dos tipos de asociaciones, la asociación no estadística y la asociación estadística.

Una asociación no estadística entre una enfermedad y una variable de exposición es una asociación que surge por casualidad.

Las variables que ocurren juntas con mayor o menor frecuencia que lo esperado por casualidad se consideran asociadas estadísticamente. La asociación positiva (cuando ocurren juntas con mayor frecuencia) indica en la

mayoría de los casos una relación causal (causa-efecto) entre el factor hipotético de riesgo y la enfermedad o lesión (Thrusfield, 2007).

Sin embargo a demostración de una asociación estadísticamente significativa no prueba que un factor es causal. Se requiere que el mecanismo de la inducción de una enfermedad por una causa se debe explicar mediante la descripción de la cadena de eventos, desde la causa hasta el efecto, un nivel " más profundo " de la comprensión que la que ofrece la asociación estadística (Baja *et al.*, 1983)

Last *et al.*, (2001) consideraron factores de riesgo solo a los que presentaban una asociación estadística y una relación causal; los factores hipotéticos que presentan una asociación no causal son marcadores del riesgo.

También existen factores de confusión que resultan del efecto de una variable extraña que puede totalmente o en parte producir una falsa asociación entre las variables de estudio, o puede enmascarar una verdadera asociación.

El conocimiento de los factores de riesgo es útil en la identificación de las poblaciones y las áreas en la que atención veterinaria debe dirigirse (Thrusfield, 2007).

1.8.1 Identificación de los factores de riesgo.

Los estudios observacionales son utilizados para identificar factores de riesgo y estimar los efectos cuantitativos de los distintos componentes causales que contribuyen a la ocurrencia de la enfermedad.

La investigación se basa en el análisis de la ocurrencia natural de la enfermedad en las poblaciones; mediante la comparación de individuos o unidades observacionales, con respecto a la ocurrencia de la enfermedad y la exposición a los factores hipotéticos de riesgo (Kelsey *et al.*, 1986).

Los factores de riesgo pueden ser categóricos o cuantitativos, sin embargo los sujetos de un estudio observacional son comúnmente variables categóricas, por lo que factores cuantitativos pueden ser analizados mediante la agrupación de la información en variables discretas.

En dichos estudios se clasifica a los animales en aquellos con y sin la enfermedad, y aquellos expuestos y no expuestos a factores de riesgo hipotéticos.

Para identificar la causa de una enfermedad el primer paso es la determinación de la probabilidad de una asociación estadísticamente significativa entre la enfermedad y un factor hipotético de riesgo. El segundo paso es medir que tan fuerte es dicha asociación.

Para la primera evaluación se utiliza la prueba no paramétrica de ji-cuadrada, en donde cada variable genera una tabla 2 x 2 contingencia para cada relación enfermedad - factor.

Cuando el tamaño de la muestra es limitado, las celdas de la tabla de contingencia de 2 x 2 presentan números menores a 5, en estos casos la prueba de ji-cuadrada no es confiable y se debe utilizar la prueba exacta de Fisher (Thrusfield, 2007).

Para estimar el grado de asociación entre el factor hipotético de riesgo y la enfermedad se calcula el riesgo relativo (RR) o la razón de momios (RM). Y para calcular el impacto de dicho factor en los expuestos a diferencia de los no expuestos se calcula el riesgo atribuible (RA).

El riesgo relativo es la proporción de la incidencia de la enfermedad en los animales expuestos y la incidencia en los animales no expuestos.

La razón de momios es la proporción de la probabilidad de ocurrencia de un evento (enfermedad) en los expuestos a un factor y la probabilidad de no ocurrencia del mismo en los no expuestos.

El riesgo atribuible es la diferencia absoluta entre la ocurrencia de la enfermedad en los expuestos y de los no expuestos.

Para el caso del RR y la RM un valor mayor a uno indica una asociación estadística positiva, indicando que la variable de exposición (factor de riesgo) aumenta la presentación de la enfermedad (Zhang y Kaj, 1998; Moreno *et al.*, 2000).

Ya establecida la asociación y su grado se realiza una regresión logística que predice el resultado de la variable de resultado (enfermedad) en función de las variables de exposición (factores hipotéticos de riesgo). Es una técnica utilizada para controlar los factores de confusión y el ajuste de interacciones (Kleinbaum y Klein, 2010; Barros y Hirakata, 2003).

Factores de riesgo involucrados en el paro cardíaco, tuberculosis extrapulmonar, infección por *Clostridium difficile* y la colonización bacteriana de marcapasos son algunos de los estudios en donde se utilizó una metodología similar a la descrita (Hodgetts *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 2004; Dubberke *et al.*, 2007; Chu *et al.*, 2014).

II. Justificación

Desde 1980, el *Rubulavirus* porcino ha permanecido en el centro de la República Mexicana, provocando signología nerviosa, respiratoria y reproductiva, presentando combinaciones entre éstas, en animales de diferentes edades ocasionando cuantiosas pérdidas económicas en la zona Bajío y occidente de nuestro país. Por esta razón, es necesario identificar los posibles factores presentes en las unidades de producción porcina (UPP) del Bajío mexicano, que predisponen a los cerdos a la presentación de la infección del virus del ojo azul.

III. Hipótesis

Existen posibles factores de riesgo específicos asociados a la localización, número de animales, fin zootécnico de la granja, flujo de los animales, medidas de bioseguridad y otras enfermedades presentes en las UPP del Bajío mexicano, que afectan la presencia o la ausencia de la infección por el virus de ojo azul en los cerdos.

IV. Objetivo

Identificar posibles factores de riesgo involucrados en la infección por el *Rubulavirus* Porcino, asociado al síndrome del ojo azul, mediante el análisis de algunas características de las UPP del bajío mexicano, del propio agente y del hospedero, para poder así instrumentar medidas de control y de prevención contra esta enfermedad.

V. Material y métodos

5.1 Estudio epidemiológico.

Se llevó a cabo un estudio transversal en el cual se evaluaron 23 UPP de traspatio, familiares, semi-tecnificadas y tecnificadas, que se encuentran en los estados de Michoacán, Jalisco, Hidalgo, Estado de México y Guanajuato.

El estudio se efectuó en el periodo de enero a diciembre del 2014. Se realizó un muestreo por conveniencia (no aleatorio).

5.2.1 Método estadístico.

Se tomó a cada producción porcina como la unidad de análisis.

Para determinar la presencia o ausencia de la infección y así clasificar a las UPP en positivas o negativas, se realizó un tamaño mínimo de muestra el cual se calculó con la fórmula de Cannon y Roe (1982) $n = (1 - (1 - a)^{1/D})(N - (D - 1)/2)$, utilizando una prevalencia intra-granja esperada del 15% y un 95% de confianza, los resultados se muestran en el Cuadro 1, con estos valores se llegó a la conclusión de que era necesario pedir al menos 25 muestras por UPP para realizar el diagnóstico contra EOA; que en caso de un resultado de diagnóstico negativo a EOA poder aseverar que la granja es negativa a una prevalencia igual o mayor al 15% con un 95% de confianza.

Cuadro 1. Resultados de la fórmula de Cannon y Roe dependiendo de la población de cerdos en cada UPP

POBLACIÓN DE CERDOS EN LA LÍNEA	PREVALENCIA	ANIMALES ENFERMOS POR POBLACIÓN	Tamaño mínimo de muestra (TMM)
200	0.15	30	17.6
300	0.15	45	17.9
400	0.15	60	18.0
500	0.15	75	18.1
600	0.15	90	18.2
700	0.15	105	18.2
800	0.15	120	18.3
900	0.15	135	18.3

1000	0.15	150	18.3
1100	0.15	165	18.3
1200	0.15	180	18.3
1300	0.15	195	18.3
1400	0.15	210	18.3
1500	0.15	225	18.4
1600	0.15	240	18.4
1700	0.15	255	18.4
1800	0.15	270	18.4
1900	0.15	285	18.4
2000	0.15	300	18.4
2100	0.15	315	18.4
2200	0.15	330	18.4
2300	0.15	345	18.4
2400	0.15	360	18.4

5.2 Muestras para determinar la presencia o ausencia de la infección por *Rubulavirus* porcino

Las muestras utilizadas fueron suero sanguíneo de lechones en etapa de lactancia, destete y crecimiento, y de hembras no vacunadas. Los sueros utilizados en el estudio fueron enviados en su mayoría por paquetería, y conservados con refrigerantes y hielo seco para asegurar su calidad biológica.

Los sueros recibidos en promedio eran 21 a 30 por UPP, a todos se les realizó el diagnóstico para ojo azul y se realizaron “pools” de 3 sueros para el diagnóstico de influenza; con la finalidad de observar si había relación entre la presencia de EOA e influenza.

Las muestras de suero sanguíneo se inactivaron en baño de María a 56°C por 30 min. Posteriormente se realizó la adsorción del suero y finalmente la inhibición de la hemaglutinación (IH) para el diagnóstico de *Rubulavirus* porcino y de influenza H1N1 y H3N2.

Para la adsorción de los sueros se depositó, en una placa de 96 pozos en “U”, suero sanguíneo, caolín y glóbulos rojos en las cantidades descritas en la Cuadro 2, y se le dejó incubando por 24 horas a una temperatura de 4°C.

Cuadro 2. Cantidades necesarias para la adsorción (Protocolo del laboratorio de medicina y zootecnia de cerdos de la FMVZ- UNAM).

ADSORCIÓN PARA IH DE OJO AZUL	ADSORCIÓN PARA IH DE INFLUENZA
100 µl de suero sanguíneo	50 µl de suero sanguíneo
50 µl de caolín	100 µl de caolín
50 µl de glóbulos rojos de bovino al 5%	100 µl de glóbulos rojos de ave al 5%

Después de la incubación de la adsorción, se realizó la IH conforme al protocolo utilizado en el Laboratorio de Diagnóstico del Departamento de Medicina y Zootecnia Porcina (DMZP) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM (Anexo 2).

Como se describe en el Anexo 2 para la IH de influenza se utilizó virus H1N1 y H3N2 a 8 unidades hemaglutinantes (UH) el cual fue donado por el DMZP de la FMVZ.

Para el caso de la IH de ojo azul, se replicó el Rubulavirus de diagnóstico en células Vero para obtener la cantidad a 8 UH necesarias para las 700 reacciones aproximadamente.

5.3 Elaboración de un cuestionario y obtención de datos.

Se elaboró un cuestionario de opción múltiple que fue auto-administrado, las variables consideradas en las preguntas que se realizaron fueron:

- Datos generales de la UPP: localización, nombre del encargado, fecha, contacto.
- Características de la UPP: fin zootécnico de la granja y número de animales existentes en la granja.
- Manejo de los animales en la UPP: días al sacrificio, edad al destete, alimentación, inseminación, origen del pie de cría y flujo de los animales.

- Parámetros de mortalidad: porcentajes de mortalidad en maternidad, destete y engorda.
- Medidas de bioseguridad: distancia de mataderos, control de visitas y acceso, tapetes sanitarios, certificado de animales nuevos en la granja, cuarentena y movimiento del personal.
- Sanidad animal: muestreos de patógenos específicos (PRRS y Circovirus), resultado de los muestreos, enfermedades existentes en la granja, vacunación, signos clínicos que manifiestan los animales.

En cada producción porcina se pidió al encargado o MVZ responsable responder al cuestionario (Anexo 3) y obtener las muestras de sueros sanguíneos, dependiendo de la cantidad de animales en la granja mencionada en el cuadro 1.

Se evaluó el total de las preguntas del cuestionario (37 preguntas), con la finalidad de analizar la mayor cantidad de variables de exposición de los animales en las granjas y con ello orientarnos en la identificación de algún factor de riesgo para la presentación de la infección por ojo azul (OA).

5.4 Análisis de resultados.

Para conjuntar y evaluar los resultados de los cuestionarios que fueron llenados por los productores fue necesario ingresar el cuestionario en el programa Epi Info 3.5.4. Una vez creado el cuestionario se realizó la captura de los mismos y se agregó una pregunta dónde se determinaba si la granja resulto positiva o negativa a la IH de OA elaborada en el laboratorio del DMZC.

Como primer enfoque en el estudio la información se procesó con ayuda de este programa en el cual se realizaron tablas de contingencia por cada variable o factor de exposición (pregunta del cuestionario) contra la variable de respuesta (positivo o negativo a EOA); así se obtuvo la razón de momios (RM= (Enfermos no expuestos * Sanos no expuestos) / (Sanos expuestos * Enfermos no expuestos) por cada pregunta, a su vez se empleó una prueba de independencia con estas tablas de contingencia usando una Chi cuadrada, o la prueba exacta de Fisher cuando la combinación de niveles de factores tuvo menos de 5 observaciones.

Como un segundo enfoque del estudio, las variables que por medio de la prueba de independencia y el cálculo de la razón de momios presentaron una asociación estadística ($P < 0.05$) se introdujeron en un modelo de regresión logística; para corroborar el tipo de asociaciones y para determinar si son o no un factor de riesgo para la presentación de la infección por ojo azul, controlando para otras variables confusoras potenciales.

VI. Resultados

Se analizó la información procedente de 23 cuestionarios (uno por cada UPP) y el resultado de 622 muestras de suero sanguíneo procedente de estas UPP.

Las muestras se obtuvieron de UPP's de cinco diferentes estados del bajío Mexicano, de estas unidades se obtuvieron 14 granjas negativas y 9 granjas positivas a la prueba de IH (Cuadro 3).

Cuadro 3. Estados de la república muestreados y número de Unidades de Producción Animal (UPP) positivas a ojo azul.

Estado	Número de UPP	Porcentaje del total (%)	UPP positivas a OA
Estado de México	5	21.8	4
Guanajuato	7	30.4	2
Hidalgo	1	4.3	0
Jalisco	8	34.8	1
Michoacán	2	8.7	2
TOTAL	23	100	9

6.1 Análisis estadístico y epidemiológico.

En el primer enfoque se analizaron 74 variables de cada uno de los 23 cuestionarios con el programa Epi Info 3.5.4, SPSS statistics y JMP. Cada variable de exposición fue enfrentada con la variable de respuesta (positivo o negativo a la infección por ojo azul) en una tabla de contingencia obteniendo el valor de la razón de momios (RM), el intervalo de confianza (IC) al 95% para la RM y el valor de P con la prueba exacta de Fisher.

Para no rechazar una asociación estadística entre las variables de exposición y la variable de respuesta se tomó como criterio el valor $\alpha = 0.05$. El resultado de este análisis se muestra en la Cuadro 4.

Cuadro 4. Razón de momios (RM), valor de P e intervalo de confianza (IC 95%) de variables de manejo de una unidad de producción animal (UPP) con respecto a la presencia de la infección ojo azul.

Variable	Número de UPP	(%)	OA +	RM	Valor P	IC 95%
Fin zootécnico					0.5217	
Pie de cría	4	17.4	1	0.45		0.0400-5.2563
Engordadora	0	0	0	0		0
Ciclo completo	16	69.6	6	0.800		0.1313-4.8739
Productora de lechones	3	13	2	3.7143		0.2842-48.5473
TOTAL	23	100	9			
Flujo de los animales					0.0162	
Flujo continuo	11	47.8	3	0.3750		0.0656-2.1449
Sitios múltiples	2	8.7	2	ND*		ND*
Todo dentro-todo fuera	7	30.4	1	0.1667		0.0162-1.7179
Combinación sitios y td-tf	3	13.1	3	ND*		ND*
TOTAL	23	100	9			

ND*: No definido. El cálculo de RM y el IC 95% no se puede realizar en esta variable debido a que existe alguna celda sin observaciones en la tabla de contingencia.

OA+: Unidades de producción porcina positivas al diagnóstico de ojo azul.

El cuadro 4 enumera las variables del tipo de manejo de una granja, donde se observa que el mayor porcentaje de granjas estudiadas fue el de ciclo completo (69.6%) y el flujo de los animales con mayor porcentaje dentro de las granjas muestreadas fue el flujo continuo (47.8%). El “fin zootécnico” no mostró una asociación estadística con la presencia de la infección por *Rubulavirus* porcino ($P < 0.05$) cuando se analizó usando estas tablas de contingencia, pero sí al usar un modelo de regresión logística, lo que reveló estar confundido con otras variables. El “flujo de los animales” estuvo asociado a EOA ($P = 0.016$).

Cuadro 5. Razón de momios (RM), valor de P e intervalo de confianza (IC 95%) de variables de tamaño de hato con respecto a la presencia de ojo azul.

Variable	Número de UPP	(%)	OA+	RM	Valor P	IC 95%
Número de hembras					0.0004	
Menos de 70	10	43.5	1	0.0694		0.0066-0.7273
Entre 70 y 500	6	26.1	1	0.2250		0.0215-2.3565
Más de 500	7	30.4	7	ND*		ND*
TOTAL	23	100	9			
Número lechones destetados					0.0063	
Menos de 200	10	45.5	2	0.2143		0.0322-1.4252
Entre 200 y 1800	5	22.7	0	0		0-1
Más de 1800	7	31.8	7	ND*		ND*
TOTAL	22	100	9			
Número de cerdos engorda					0.0006	
Menos de 350	6	35.3	0	0		ND*
Entre 350 y 3300	4	23.5	0	0		ND*
Más de 3300	7	41.2	7	ND*		ND*
TOTAL	17	100	7			
Número de sementales					0.3510	
Menos de 2	10	50	4	1.5556		0.244-9.9131
Entre 2 y 7	7	35	1	0.1944		0.0180-2.1038
Más de 7	3	15	2	4.8000		0.350-65.76
TOTAL	20	100	7			

ND*: No definido. El cálculo de RM y el IC 95% no se puede realizar en esta variable debido a que existe alguna celda sin observaciones en la tabla de contingencia.

OA+: Unidades de producción porcina positivas al diagnóstico de ojo azul.

Hubo asociación estadística de OA con las variables “número de hembras” (P= 0.0004), “número de lechones destetados” (P=0.0063) y “número de cerdos en engorda” (P=0.0006). El resto de las variables no estuvieron asociadas con OA (P>0.05) (Cuadro 5).

Cuadro 6. Razón de momios (RM), valor de P e intervalo de confianza (IC 95%) de las variables productivas analizadas con respecto a la presencia de ojo azul.

Variable	Número de UPP	(%)	OA +	RM	Valor P	IC 95%
Días al sacrificio					0.185	
Menos de 147	4	21	0	ND*		ND*
Entre 147 y 167	9	47.5	3	0.6250		0.0925-4.212
Más de 167	6	31.6	4	6.06		0.7043-51.103
TOTAL	19	100	7			
Días al destete					0.012	
Menos de 21	4	18.2	1	0.4167		0.0361-4.8127
Entre 21 y 27	12	54.5	8	18		1.65-196.31
Más de 27	6	27.3	0	ND*		ND*
TOTAL	22	100	9			

ND*: No definido. El cálculo de RM y el IC 95% no se puede realizar en esta variable debido a que existe alguna celda sin observaciones en la tabla de contingencia.

OA+: Unidades de producción porcina positivas al diagnóstico de ojo azul.

Los “días al sacrificio” no estuvieron asociados con OA ($P > 0.05$) mientras que los “días al destete” si ($P = 0.012$) (Cuadro 6).

Cuadro 7. Razón de momios, valor de P e intervalo de confianza (IC 95%) de variables asociadas a la genética de la granja con respecto a la presencia de ojo azul.

Variable	Número de UPP	(%)	OA +	RM	Valor P	IC 95%
Inseminación artificial					0.003	
Al 100%	11	50	8	29.333		2.5578-336.4025
Variable	9	40.9	1	0.0938		0.0091-0.9663
No aplicable	2	9.1	0	ND*		ND*
TOTAL	22	100	9			
Origen del pie de cría						
Raza pura	1	7.8	0	ND*	0.6006	ND*
F1	20	95.2	7	0.2692	0.3320	0.0206-3.5190
TOTAL	21	100	7			

ND*: No definido. El cálculo de RM y el IC 95% no se puede realizar en esta variable debido a que existe alguna celda sin observaciones en la tabla de contingencia.

OA+: Unidades de producción porcina positivas al diagnóstico de ojo azul.

No se observó asociación estadística para las variables del “origen del pie de cría” ($P>0.05$). Sin embargo, la variable “inseminación artificial” sí presentó asociación con OA ($P= 0.003$) (Cuadro 7).

Cuadro 8. Razón de momios (RM), valor de P e intervalo de confianza (IC 95%) de porcentajes de mortalidad en las diferentes áreas de producción con respecto a la presencia de ojo azul.

Variable	Número de UPP	(%)	OA +	RM	Valor P	IC 95%
Mortalidad en maternidad					0.037	
Menos del 3%	9	40.9	1	0.0781		0.0074-0.8275
Entre el 3 y 7%	4	18.2	1	0.4167		0.0361-4.8127
Más del 7%	9	40.9	7	19.25		2.1824-169.7937
TOTAL	22	100	22			
Mortalidad en destete					0.027	
Menos del 3%	14	63.6	3	0.0909		0.0117-0.7042
Entre el 3 y 6%	8	36.4	6	11		1.4201-85.2040
Más del 6%	0	0	0	0		0
TOTAL	22	100	9			
Mortalidad en engorda					0.014	
Menos del 2%	9	45	0	ND*		ND*
Entre el 2 y 5%	7	35	6	60		3.1377-1147.35
Más del 5%	3	20	2	4		0.2884-55.4730
TOTAL	19	100	7			

ND*: No definido. El cálculo de RM y el IC 95% no se puede realizar en esta variable debido a que existe alguna celda sin observaciones en la tabla de contingencia.

OA+: Unidades de producción porcina positivas al diagnóstico de ojo azul.

Todas las variables de mortalidad en las diferentes áreas estuvieron asociadas con OA ($P<0.05$).

Cuadro 9. Razón de momios (RM), valor de P e intervalo de confianza (IC 95%) de medidas de bioseguridad con respecto a la presencia de ojo azul.

Variable	Número de UPP	(%)	OA +	RM	Valor P	IC 95%
Distancia a granjas y rastros					0.2428	
Menos de 1 km	7	30.4	2	0.5143		0.0758-3.4882
Entre 1 y 3 km	7	30.4	5	7.50		1.0228-54.99
Más de 3 km	9	39.2	2	0.2857		0.0432-1.8888
TOTAL	23	100	9			
Control de acceso de vehículos						
Si	18	78.3	9	ND*	0.0594	ND*
No	5	21.7	0			
TOTAL	23	100	9			
Control de visitas						
Si	17	73.9	8	4.4444	0.2082	0.4244-46.5477
No	6	26.1	1			
TOTAL	23	100	9			
Ducha obligatoria						
Si	9	39.1	6	7.3333	0.0415	1.1142-48.2659
No	14	30.9	3			
TOTAL	23	100	9			
Ropa y botas de la granja						
Si	22	95.6	9	ND*	0.6088	ND*
No	1	4.4	0			
TOTAL	23	100	9			
Tapetes sanitarios en las entradas						
Si	17	73.9	8	4.4444	0.2082	0.4244-46.5477
No	6	26.1	1			
TOTAL	23	100	9			
Tapetes sanitarios limpios						
Si	17	73.9	8	4.4444	0.2082	0.4244-46.5477
No	6	26.1	1			
TOTAL	23	100	9			

Área de cuarentena						
Si	10	43.5	5	2.25	0.3061	0.4070-12.4394
No	13	56.5	4			
TOTAL	23	100	9			
Días en la cuarentena					0.013	
Menos de 30	0	0	0	0		0
Entre 30 y 60	3	33.3	0	ND*		ND*
Más de 60	6	66.7	5	ND*		ND*
TOTAL	9	100	5			
Movilidad de personal de cuarentena a UPP						
Si	2	20	2	ND*	0.2222	ND*
No	8	80	3			
TOTAL	10	100	5			
Certificado de salud						
Si	2	10.5	1	2.400	0.5438	0.1242-46.3938
No	17	89.5	5			
TOTAL	19	100	6			
Cerca perimetral						
Si	20	86.9	8	1.3333	0.6679	0.1029-17.2785
No	3	13.1	1			
TOTAL	23	100	9			
Edificios para cada etapa						
Si	20	86.9	9	ND*	0.2055	ND*
No	3	13.1	0			
TOTAL	23	100	9			
Alimentación por etapas						
Si	22	95.6	9	ND*	0.6086	ND*
No	1	4.4	0			
TOTAL	23	100	9			

ND*: No definido. El cálculo de RM y el IC 95% no se puede realizar en esta variable debido a que existe alguna celda la tabla de contingencia sin observaciones.

OA+: Unidades de producción porcina positivas al diagnóstico de ojo azul.

En relación a las medidas de bioseguridad, las variables que estuvieron asociadas a OA fueron “ducha obligatoria” ($P < 0.05$) con una $RM = 7.3333$ con respecto a las granjas donde se ducha), y “días a la cuarentena” ($P < 0.01$) El resto de los factores de bioseguridad no mostraron estar asociados con OA ($P > 0.05$).

Cuadro 10. Razón de momios (RM), valor de P e intervalo de confianza de variables de diagnóstico clínico con respecto a la presencia de ojo azul (OA).

Variable	Número de UPP	(%)	OA +	RM	Valor P	IC 95%
Muestreo de patógenos específicos						
Si	12	52.2	8	20.000	0.0069	1.8502-216.187
No	11	47.8	1			
TOTAL	23	100	9			
Prueba diagnóstica de OA						
Si	13	56.5	8	14.400	0.0166	1.3749-150.3144
No	10	43.5	1			
TOTAL	23	100	9			
Resultado OA						
Positivo	11	73.3	8	ND*	0.0544	ND*
Negativo	4	26.7	0	ND*	0.0149	ND*
TOTAL	15	100	8			
PRRS						
Si	13	56.5	8	14.40	0.0166	1.3749-150.8144
No	10	43.5	1			
TOTAL	23	100	9			
Circovirus						
Si	13	56.5	9	ND*	0.0008	ND*
No	10	43.5	0			
TOTAL	23	100	9			

Influenza						
Si	23	100	9	0.6552	0.8360	0.0119-35.9312
No	0	0	0			
TOTAL	23	100	9			
Signos en la UPP						
Opacidad	2	9.1	1	1.6250	0.6403	0.0887-29.7827
Hembras: falla reproductiva	3	13	3	ND*	0.0474	ND*
Machos: atrofia testicular	0	0	0	0	0	0
Problemas neurológicos en lechones	1	4.4	1	ND*	0.3913	ND*
TOTAL	6	100	5			
Vacunación contra OA						
Si	7	31.8	5	6.8750	0.0642	0.9307-50.784
No	15	68.2	4			
TOTAL	22	100	9			
Época en la que sea frecuente OA						
Si	7	41.2	7	ND*	0.0004	ND*
No	10	58.8	1			
TOTAL	17	100	8			

ND*: No definido. El cálculo de OR y el IC 95% no se puede realizar en esta variable debido a que en existe alguna celda sin observaciones en tabla de contingencia.

Los resultados de los factores asociados a medidas sanitarias se muestran en el cuadro 10. Las variables “muestreo de patógenos específicos” ($P < 0.01$; $OR = 20$), “prueba diagnóstica para OA” ($P < 0.02$; $OR = 14.400$), “resultado negativo a la prueba de OA” ($P < 0.02$; $OR = ND$), “PRRS” ($P < 0.02$; $OR = 14.40$), “Circovirus” ($P < 0.001$; $OR = ND$), “falla reproductiva” ($P < 0.05$; $OR = ND$) y “época del año en la que se presenta la enfermedad” ($P < 0.001$; $OR = ND$) tienen asociación estadística con la presencia de infección por Rubulavirus porcino. Los factores restantes no mostraron asociación estadística ($P > 0.05$).

Se evaluó el riesgo atribuible sólo para las variables con asociación estadística significativa y RM no definido, con la finalidad de identificar el efecto absoluto

en los animales expuestos que es debido a un posible factor de riesgo (Cuadro 11).

Cuadro 11. Riesgo atribuible de las variables con asociación estadística con OA y RM no definida.

Variable (Factor de exposición)	Riesgo Atribuible	Asociación epidemiológica
Combinación sitios y Td-Tf	70 IC: 49-90	Positiva
Hembras más de 500	87.5 IC: 71-103	Positiva
Lechones destetados más de 1800	87.5 IC: 71-103	Positiva
Cerdos de engorda menos de 350	-58.33 IC: (-86)-(-30)	Negativa
Cerdos de engorda más de 3300	100 IC: 100-100	Positiva
Destete más de 27 días	-56.25 IC: (-80)-(-31)	Negativa
Mortalidad engorda menos de	-77.73 IC: (-104)-(-50)	Negativa
Cuarentena entre 30 y 60 días	-83.33 IC: (-113)-(-53)	Negativa
Cuarentena más de 60 días	83.33 IC: 53-113	Positiva
Prueba diagnóstica negativa a OA	-80 IC: (-104)-(-55)	Negativa
Circovirus	69.80 IC: 44-94	Positiva
Falla reproductiva	70 IC: 49-90	Positiva
Época de presentación	90 IC: 71-108	Positiva

El cuadro 11 nos muestra que las variables “combinación sitios y Td-Tf”, “hembras más de 500”, “lechones destetados más de 1800”, “cerdos de engorda más de 3300”, “cuarentena más de 60 días”, “Circovirus”, “falla reproductiva” y “época de presentación” presentan un riesgo atribuible al factor de exposición positivo por lo que podemos concluir que existe una asociación

epidemiológica positiva, esto ocurre cuando la probabilidad de ocurrencia de una variable aumenta con la presencia de otra variable.

Las variables “cerdos de engorda menos de 350”, “destete más de 27 días”, “mortalidad engorda menos de 2%”, “cuarentena entre 30 y 60 días” y “prueba diagnóstica negativa a OA” no muestran un riesgo adicional de presentar la infección por OA.

En una segunda parte del análisis estadístico se utilizó un modelo de regresión logística paso a paso (stepwise regression) de eliminación bidireccional, en donde se incluyeron todas las variables (no sólo las que habían presentado asociación estadística significativa) y se fueron eliminando para concluir con el modelo que sólo incluye las variables que afectan la probabilidad de la infección por OA. Con este enfoque se encontró que el fin zootécnico ($P < 0.05$) y el número de animales en la granja ($P < 0.001$) (ya sea medido a partir de la variable número de hembras, número de lechones en destete o número de cerdos en engorda) presentaron una asociación estadística con la presencia de OA.

Cuadro 12. Razón de momios y valor de P para la variable “fin zootécnico” con respecto a la presencia de EOA.

Nivel 1	Nivel 2	Razón de momios	Valor P
Productora Lechones	Ciclo completo	1.4161e-8	0.0257
Pie de cría	Ciclo completo	8119291.2	0.3063
Pie de cría	Productora Lechones	5.734e+14	0.0178
Ciclo completo	Productora Lechones	70618143	0.0257
Ciclo completo	Pie de cría	1.2316e-7	0.3063
Productora	Pie de cría	1.744e-15	0.0178

Lechones			
-----------------	--	--	--

El cuadro 12 muestra los valores de RM y el valor de P para la asociación de la variable fin zootécnico con OA que se observó en las granjas muestreadas. La combinación “productora de lechones - ciclo completo” y “productora de lechones – pie de cría” mostro una asociación estadística significativa (P= 0.0257 y 0.0178 respectivamente). En donde la productora de lechones tiene 70, 618,143 veces más la posibilidad de presentar la infección por ojo azul que las granjas de ciclo completo y 5.734e+14 veces más riesgo que el pie de cría de presentar infección por ojo azul.

Cuadro 13. Razón de momios y valor de P para la comparación de niveles de la variable “número de hembras” con respecto a la presencia de EOA.

Nivel 1	Nivel 2	Razón de momios	Valor P
Más de 500	Menos de 70	1.834e-22	<.0001
Entre 70 y 500	Menos de 70	1.4161e-8	0.0257
Entre 70 y 500	Más de 500	7.72e+13	0.0166
Menos de 70	Más de 500	5.451e+21	<.0001
Menos de 70	Entre 70 y 500	70618143	0.0257
Más de 500	Entre 70 y 500	1.295e-14	0.0166

Para el caso del número de hembras podemos observar (Cuadro 14) que todas las comparaciones de las combinaciones de niveles de esta variable presentaron una asociación estadística significativa con respecto a la presencia de EOA (P<0.05).

El análisis basado en la regresión logística paso a paso mostró que la presencia de PRRS y Circovirus estuvieron asociadas con la presencia de OA de modo marginal (valores de P entre 0.10 y 0.05). Al incluir estas variables en

el modelo, la relación de las variables fin zootécnico y número de hembras con la presencia de EOA se modificó (Cuadro 14).

Cuadro 14. Razón de momios y valor de P para la comparación de niveles de la variable “fin zootécnico” con respecto a la presencia de EOA.

Nivel 1	Nivel 2	Razón de momios	Valor P
Productora Lechones	Ciclo completo	1.822e-15	0.0068
Pie de cría	Ciclo completo	7640726	0.3063
Pie de cría	Productora Lechones	4.194e+21	0.0085
Ciclo completo	Productora Lechones	5.489e+14	0.0068
Ciclo completo	Pie de cría	1.3088e-7	0.3063
Productora Lechones	Pie de cría	2.384e-22	0.0085

El cuadro 14 muestra los valores de RM y el valor de P para la comparación de niveles de los tres diferentes fines zootécnicos que encontramos en las granjas muestreadas. La combinación “productora de lechones - ciclo completo” y “productora de lechones – pie de cría” mostró una asociación estadística significativa que fue más evidente que en el modelo de regresión sin PRRS (P= 0.0068 y 0.0085 respectivamente). En donde la productora de lechones tiene 5.489e+14 veces más la posibilidad de presentar la infección por ojo azul que las granjas de ciclo completo y 5.194e+21 veces más riesgo que el pie de cría de presentar infección por ojo azul. Dichos valores de RM también aumentaron al incluirse la variable PRRS al modelo de regresión logística.

Cuadro 15. Razón de momios y valor de P para comparación de niveles de la variable “número de hembras” con respecto a la presencia de EOA.

Nivel 1	Nivel 2	Razón de momios	Valor P
Más de 500	Menos de 70	1.636e-36	<.0001*
Entre 70 y 500	Menos de 70	1.146e-22	0.0069*
Entre 70 y 500	Más de 500	7.001e+13	0.0166*
Menos de 70	Más de 500	6.111e+35	<.0001*
Menos de 70	Entre 70 y 500	8.728e+21	0.0069*
Más de 500	Entre 70 y 500	1.428e-14	0.0166*

Al igual que la relación de EOA con la variable “fin zotécnico”, la relación de EOA con la variable “número de hembras” se modifica la razón de momios con la presencia de la variable “PRRS” en el modelo ($P < 0.01$). La opción “más de 50” tiene un $7.001e+13$ y $6.111e+35$ veces más posibilidad de presentar la infección que las granjas de “entre 70 y 500” y “menos de 70” respectivamente. “Entre 70 y 500” presentó un RM de $8.728e+21$ sobre la variable “menos de 70” demostrando que las granjas entre 70 y 500 hembras tienen más probabilidad de presentar la infección que las granjas a pequeña escala.

Cuadro 16. Razón de momios y valor de P para la comparación de niveles de la variable “PRRS” con respecto a la presencia de ojo azul.

Nivel 1	Nivel 2	Razón de momios	Valor P
Si	No	$1.823e+14$	0.0959
No	Si	$5.486e-15$	0.0959

VII. Discusión

Debido a problemas sanitarios en el periodo de esta evaluación (aparición de la diarrea epidémica porcina en México en el año 2013) no fue posible incluir el número de UPP's requerido para garantizar la potencia estadística necesaria del estudio en la población del bajío Mexicano evaluada. Por ello, este estudio no posee la potencia estadística necesaria para determinar que las variables que no mostraron asociación con la infección de ojo azul en el estudio realmente no la tengan.

No obstante de lo anterior, se demostró en el presente estudio con las variables “número de hembras”, “número de lechones destetados” y “número de cerdos en engorda” que un tamaño de hato grande, está fuertemente asociado y representan un factor de riesgo para la presencia de la infección por *Rubulavirus* porcino. Estudios anteriores (Bäckström, 1973; Lindqvist, 1974; Aalund *et al.* 1976) consideraban el tamaño de hato entre los factores que influían en la sanidad de las granjas porcícolas; no obstante, la razón científica o biológica del factor tamaño de hato aún no se ha establecido o especificado. Sin embargo, estudios posteriores indican que la concentración en proximidad de animales o humanos promueve el potencial de transmisión de microorganismos entre los miembros del grupo (Gilchrist, 2007).

Gardner *et al.* (2002) realizaron una evaluación de los estudios publicados desde el año 1974 hasta el 2001 en cuanto a la relación del tamaño de hato y varias enfermedades de los cerdos. Encontraron que para las enfermedades como la toxoplasmosis la relación entre un hato grande y la enfermedad era negativa, sin embargo para enfermedades respiratorias, incluyendo la enfermedad de Aujeszky la relación entre un tamaño de hato grande y las enfermedades era usualmente positiva. Tal es el caso de Ewald *et al.* (1994) y Maes *et al.* (2001) los cuales identificaron que una elevada densidad de población puede ser un factor de riesgo para el caso de influenza H1N1 y H3N2, esto debido a la facilidad de transmisión por vía aérea y al elevado número de contactos entre hatos, al igual que ellos, otros estudios hallaron una asociación positiva entre el tamaño de hato y la seroprevalencia de la enfermedad de Aujeszky (Anderson *et al.*, 1990; Christensen *et al.*, 1990) y

asociación entre un hato grande con una clona de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente (Broens *et al.*, 2011). En contraste Mastin (2011) reportó que no encontró relación entre la presencia de influenza porcina y el tamaño y densidad del hato.

Debido a la inconsistencia en la asociación del tamaño de hato y las enfermedades se estableció que la variable de “tamaño de hato” no era la responsable de la presentación de la enfermedad *per se*, y más bien los factores que complementan o que se llevan a cabo en las unidades de producción a gran escala (Andersen *et al.*, 1990; Gardner *et al.*, 2002; Maes *et al.*, 2001; Poljak *et al.*, 2008).

Las variables “inseminación al 100%”, “cuarentena de más de 60 días”, “muestreo de patógenos específicos” y “prueba diagnóstica para ojo azul” se encontraron como variables asociadas a la presencia de la infección en el primer enfoque, lo cual se explica ya que fueron también factores característicos del manejo de unidades de producción porcina a gran escala o intensivas incluidas en este estudio; concordando con lo que se menciona en otras investigaciones, donde los factores más importantes para la diseminación de enfermedades es la entrada de animales susceptibles a la granja y el número de contactos directos o indirectos que el hato tiene con fuentes potenciales del patógeno, el cual se incrementa en medida que la población porcina aumenta. Las fuentes potenciales de patógenos pueden ser la compra de semen externo, la entrada de animales susceptibles o el personal externo que apoye en los muestreos (Poljak *et al.*, 2008; Gardner *et al.*, 2002).

En otros estudios se comprobó que el transporte, los cambios en el manejo y las condiciones de confinamiento pueden disminuir la inmunidad de las hembras de reemplazo, lo que puede derivar en una alta excreción para el caso de *Mycoplasma hyopneumoniae*, en comparación con las hembras que son de autoreemplazo (Maes *et al.*, 2001).

Se debe tomar en cuenta que la transmisión de la enfermedad se va a ver afectada por factores como el grado de contagio de los individuos infectados, la cantidad y la calidad del patógeno transmitido, el número de contactos por unidad de tiempo y la susceptibilidad de los individuos no infectados. Debido a

esto, no se puede aseverar cual es la causa de la infección en las granjas evaluadas en este estudio (Koopman y Longini, 1994).

Con esta información y el conocimiento del manejo de producciones porcinas a gran escala en México, se puede considerar que el principal factor predisponente a la presentación de la infección por *Rubulavirus* porcino es la movilización de animales. La entrada de animales susceptibles a las producciones positivas a la infección genera un rebrote de la enfermedad, mientras que la entrada de animales infectados a poblaciones no inmunes es generalmente la causa de los brotes en granjas negativas. Estas dos presentaciones son causas probables de infección en producciones multisitios; siendo el remplazo de hembras y el transporte de lechones destetados al sitio 2 los más comunes.

En la mayoría de los casos las producciones a pequeña escala se manejan en un ciclo completo, con hembras de autoreemplazo y con salida de animales solo a rastro, por este motivo la entrada y diseminación del agente es más controlada.

La variable “combinación sitios y todo dentro- todo fuera” se encontró como una variable asociada a la infección por *Rubulavirus* porcino, según estudios anteriores factores como la crianza en confinamiento, todo dentro- todo fuera y los sistemas de producción multisitio, ocurren con mayor frecuencia en hatos de gran tamaño, asociándolo con el factor de riesgo “tamaño de hato” que se encontró en éste y en otros estudios (Anderson *et al.*, 1990; Pointon *et al.*, 1985).

La variable “fin zootécnico” también se identificó como un factor de riesgo con mayor riesgo en las “granjas productoras de lechones”, como se mencionó con anterioridad los brotes de Ojo Azul se han observado comúnmente en las instalaciones de maternidad, donde se observa una elevada mortalidad en los lechones (Stephano y Gay, 1985). Del número de lechones paridos durante un brote, entre 20% y 65% se ven afectados en un brote de *Rubulavirus* porcino. La mortalidad dentro de las camadas es típicamente del 87 al 90% en comparación con las áreas de destete y engorda en donde los signos clínicos son moderados (Stephano *et al.*, 1984).

Las variables “PRRS” y “Circovirus” se encontraron asociadas marginalmente a la presencia de la infección por OA, es posible que se dé una interacción entre estos tres agentes, ya que se ha reportado que el *circovirus* porcino tipo 2 (PCV2), PRRS, el virus de influenza porcina, *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Pasterella multocida* forman un complejo respiratorio en cerdos en crecimiento y finalización, provocando signos como letargia, anorexia, fiebre, tos y disnea (Chae, 2005), los cuales también son característicos de la enfermedad de OA. Además PCV2 en la mayoría de las ocasiones se encuentra en interacción o sinergia con otros patógenos respiratorios en particular con el virus de PRRS el cual potencializa la acción del PCV2 (Allan *et al.*, 2000). En 1998 se encontró la enfermedad de OA y PRRS asociados en una granja lo cual aumento la gravedad de los signos clínicos (Stephano, 1998).

En el primer enfoque del estudio se encontró que existía asociación estadística entre la presentación de la infección y el las variables de tasa de mortalidad para las diferentes etapas, siendo la mortalidad la variable de respuesta y la infección por ojo azul el factor de exposición. El promedio de las tasas de mortalidad reportadas durante un brote de Ojo Azul fue de 15.8 % en lechones antes del destete y de 5.13% en cerdos de destete a la finalización (Stepahno, 1992), lo cual es consistente con la asociación encontrada en este estudio entre las variables “mortalidad en maternidad más de 7%”, “mortalidad en destete entre 3 y 6%” y “mortalidad en engorda entre 2 y 5%” y la presencia de la infección por Rubulavirus porcino.

Dentro de las variables que se observaron en el primer enfoque asociadas a la enfermedad la variable “época de presentación de la enfermedad del OA” presentó una fuerte asociación positiva a la variable de resultado (infección por Ojo Azul), aunado a esto el periodo mencionado en los cuestionarios en todas las ocasiones fue “febrero-marzo”. En otras enfermedades como en Aujeszky también se ha observado un alto riesgo de presentación en la época de “marzo-abril”. Se sabe que para la mayoría de las enfermedades respiratorias el periodo de invierno representa un factor de riesgo para la diseminación (Maes *et al.*, 2001).

VIII. Conclusiones

En este estudio se encontró que los cerdos de UPP a gran escala (tamaño grande de hato) tienen más probabilidad de padecer una infección por *Rubulavirus* porcino que los cerdos de unidades de producción de traspatio o familiares, posiblemente debido al manejo llevado a cabo en granjas de gran tamaño, como la entrada de animales susceptibles al hato, la probable introducción de patógenos por medio de animales externos, semen, fómites y vehículos, indicando que la variable “tamaño de hato” es un compendio de varios factores de riesgo que incrementan la probabilidad de la infección por *Rubulavirus* porcino en UPP a gran escala. Además, el fin zootécnico parece jugar un papel importante para la presentación de la enfermedad, en conjunto con el tamaño de hato. En gran parte por la cantidad de animales susceptibles que se encuentran en las granjas de tipo “productoras de lechones”.

Otros factores que se hallaron asociados significativamente con la infección de OA es su interacción con otros agentes etiológicos, como el virus de PRRS y PCV2, los cuales está demostrado pueden potencializar el daño de otro agente. Como se pudo observar en el presente estudio, las mortalidades en las granjas positivas a OA y a PRRS o PCV2 también son aquellas cuyos parámetros de mortalidades son los más elevados.

Además, el estudio encontró una relación entre la época del año y la presentación de la enfermedad, la cual coincide con hallazgos anteriores en estudios de enfermedades respiratorias.

IX. Referencias bibliográficas

- Aalund O, Willeberg P, Mandrup M, Riemann HP (1976). Lung lesions at slaughter: associations to factors in the pig herd. *Nordisk Veterinær medicin* (28): 487-495.
- Ahmed R, Biron CA (1999). Immunity to Viruses. *Fundamental Immunology*, Fourth Ed. Paul WE. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia. pp. 1295-1334
- Allan GM, McNeilly F, Walker Y, Linné T, Moreno-Lopez, Hernández-Jáuregui P, Kennedy S, Carrol BP, Herron B, Foster JC, Adair B (1996). A sequential study of experimental porcine paramyxovirus (LPMV) infection of pigs: Immunostaining of cryostat sections and virus isolation. *J. Vet. Diagn. Invest.* 8: 405-413.
- Allan GM, McNeilly F, Ellis J, Krakowka S, Meehan B, McNair I, Walker I, Kennedy S. (2000). Experimental infection of colostrum deprived piglets with porcine circovirus 2 (PCV2) and porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) potentiate PCV2 replication. *Archives of Virology* 145, 2421–2429.
- Anderson PL, Morrison RB, Molitor TW, Thawley DG (1990). Factors associated with circulation of pseudorabies virus within swine herds. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 196: 877–880.
- Bäckstrom L (1973). Environment and animal health in piglet production. A field study of incidences and correlations. *Acta Veterinaria Scandinavica* (41): 1-240.
- Barros J., & Hirakata N. (2003). Alternatives for logistic regression in cross-sectional studies: an empirical comparison of models that directly estimate the prevalence ratio. *BMC medical research methodology*, 3(1), 21.
- Berg M, Hjertner B, Moreno-López J, Linné T. (1992) The P gene of the porcine paramyxovirus LPMV encodes three possible polypeptides P, V and C: the P protein m RNA is edited. *J Gen Virol.* (73): 1195-1200.
- Berg M, Sundqvist A, Moreno – Lopez J, Linné T (1991). Identification of the porcine paramyxovirus LPMV matrix protein gene: comparative sequence analysis with other paramyxoviruses. *J Gen. Virol.* (72):1045-1050.

- Broens, E. M., Graat, E. A. M., Van Der Wolf, P. J., Van De Giessen, A. W., & De Jong, M. C. M. (2011). Prevalence and risk factor analysis of livestock associated MRSA-positive pig herds in The Netherlands. *Preventive veterinary medicine*, 102 (1): 41-49.
- Campos HRF, Carbajal SM. (1989) Trastornos reproductivos en los sementales de una granja porcina de ciclo completo ante un brote de ojo azul. Mem XXIV Congreso Nacional "AMVEC". Morelia, Michoacán, México: 62-64.
- Carreón NR, Fuentes RM, Stephano A, Ramírez MH. (1989). Estudios preliminares del paramixovirus del ojo azul en la República Mexicana. Mem. Del curso de actualización de enfermedades virales del cerdo; UNAM-AMVEC, México, D.F.: 78-82.
- Chae, C. (2005). A review of porcine circovirus 2-associated syndromes and diseases. *The Veterinary Journal*, 169 (3): 326-336.
- Chu X, Yu H, Su X, An Y, Li B, & Li X. (2014). Identification of Bacteriology and Risk Factor Analysis of Asymptomatic Bacterial Colonization in Pacemaker Replacement Patients. *PloS one*, 10(3).
- Christensen L., Mousing J., Mortensen S., Sørensen K., Strandbygaard S., Henrikson C., Andersen J (1990). Evidence of long distance airborne transmission of Aujeszky's disease (pseudorabies) virus, *Vet. Rec.* (127):471-474.
- Collier L, Oxford J (2000). Childhood infections caused by paramyxovirus. *Human Virology*. Segunda Ed. Oxford University Press. Nueva York. pp. 75-81.
- Correa- Girón P, Pérez SJ, Martínez LA, Coba AMA, Córdova LD (1998). Encuesta para detectar cerdos finalizados seropositivos al rubulavirus porcino (RVO) por inhibición de la hemaglutinación (IH) y seroneutralización (SN) Mem. XXXIV Reunión Nacional de Investigación Pecuaria Querétaro. Querétaro, Qro.: p 218
- Díaz OA, Sundqvist A, Fuentes M, et al (1989). Correlación entre IH, SN y ELISA en sueros de cerdos infectados en forma natural con paramixovirus de ojo azul (POA) y una vacuna experimental. Mem. de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria de México. México, D.F.: 82.
- Díaz VM (2005). Evaluación clínica y serológica de verracos vacunados contra la enfermedad del ojo azul, mantenidos en condiciones controladas (tesis de licenciatura). Cuautitlán Izcalli, Estado de México: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.

- Diosdado F, González D, Moles P, Morilla A. (2004). Asociación entre anticuerpos contra el virus del síndrome disgénico y respiratorio porcino y anticuerpos contra otros patógenos. *Veterinaria México*. 35 (2): 148-152.
- Dubberke R, Reske A, Yan Y, Olsen A, McDonald C, & Fraser J. (2007). *Clostridium difficile*—associated disease in a setting of endemicity: identification of novel risk factors. *Clinical Infectious Diseases*, 45(12), 1543-1549.
- Escobar-López AC, Rivera JF, Castillo H, et al (2012). Identification of antigenic variants of the porcine rubulavirus in sera of field swine and their seroprevalence. *Transboundary and Emerging Diseases* 59: 416–420.
- Ewald C., Heer A., Havenith U. (1994). Factors associated with the occurrence of influenza A virus infections in fattening swine, *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* (107):256-262.
- Fuentes RJ (1993). 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 (tesis licenciatura). México, D.F.: UNAM.
- Fuentes RM, Carreón NR, Ramírez MH, Trujillo ME, De Fraire IB. (1992) Estudio piloto de la frecuencia de anticuerpos contra el paramixovirus del ojo azul en cerdos de la República Mexicana. *Vet Mex.* (XXIII): 37-39.
- García O (1999). Estudio de la viremia en una infección experimental por *Rubulavirus porcino*. (Tesis de Licenciatura) Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla.
- Gardner IA, Willeberg P, Mousing J (2002). Empirical and theoretical evidence for herd size as a risk factor for swine diseases. *Anim Health Res Rev*, 3:43–55.
- Gay GM (1989). Pruebas de laboratorio para el diagnóstico de ojo azul. Memorias del curso sobre actualización de enfermedades vírales del cerdo. UNAM- AMVEC. México, D.F.: 83-84.
- Gilchrist MJ, Greko C, Wallinga DB, Beran GW, Riley DG, Thorne PS (2007). The potential role of concentrated animal feeding operations in infectious disease epidemics and antibiotic resistance. *Environ Health Perspect.* 115: 313–316.
- Hernández J, Garfias Y, Nieto A, Mercado C, Montaña LF, Zenteno E (2001). Comparative evaluation of the CD4+CD8+ and CD4+CD8-

- lymphocytes in the immune response to Porcine Rubulavirus: *Vet. Immunol. Immunopathol.* 79: 249-259.
- Hernández J, Reyes-Leyva J, Zenteno R, Ramírez H, Hernández-Jáuregui P, Zenteno E (1998). Immunity to porcine rubulavirus infection in adult swine. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 64: 367-381.
 - Hernández J, Sundqvist A, Fuentes M, Díaz-Orea A, Reyes-Leyva J, Hernández-Baumgarten E, Moreno-López J (1992). Correlación entre las pruebas de virus neutralización, inhibición de la hemaglutinación y ELISA en sueros vacunales y de brote para anticuerpos contra el paramixovirus del síndrome del ojo azul en cerdos. *Vet. Mex.* 23: 217-222.
 - Hodgetts J, Kenward G, Vlachonikolis G, Payne S, & Castle N. (2002). The identification of risk factors for cardiac arrest and formulation of activation criteria to alert a medical emergency team. *Resuscitation*, 54(2), 125-131
 - Kelsey J, Thompson D, Evans A (1986). *Methods in observational epidemiology.* Oxford university press, New York, USA.
 - Kirkland P, Stephano A (2006). Paramyxoviruses: Rubulavirus, Menangle, and Nipah Virus Infections. *Diseases of Swine*, 9th ed. Blackwell Publishing, Ames, Iowa: 455–467.
 - Kleinbaum G, & Klein M. (2010). *Logistic regression: a self-learning text.* Springer Science & Business Media.
 - Koopman JS and Longini IM (1994). The ecological effects of individual exposure and non-linear disease dynamics in populations. *American Journal of Public Health* 84: 836–842.
 - Lamb RA, Kolakofsky D (1996). Paramyxoviridae: The viruses and their replication. En: Fields BN, Knipe DM, Howley PM et al. (Eds). *Fields Virology*. Third Ed. Lippincott-Raven Publishers. Filadelfia-Nueva York, pp. 1177-1204.
 - Lindqvist J (1974) Animal health and environment in the production of fattening pigs. *Acta Veterinaria Scandinavica* (51): 1-78.
 - Linné T, Berg M, Bergvall AC, Hjertner B, Moreno-López J. (1992) The molecular biology of the porcine paramyxovirus LPMV. *Vet Microbiol* (33): 263.273.
 - Love B, Kirkland D, Philbey W, et al. (2000). Menangle virus a new cause of reproductive failure in pigs. *Proc Int Pig Vet Soc Congr* 16:544–547.

- Mackenzie JS, Chua KB, Daniels PW, Eaton BT, Field HE, Hall RA, et al (2001). Emerging Viral Diseases of Southeast Asia and the Western Pacific. *Emerging Infectious Diseases*. 7(3): 497-504.
- Maes DG, Deluyker H, Verdonck M, Castryck F, Miry C, Vrijens B, Ducatelle R and de Kruif A (2001). Non-infectious factors associated with macroscopic and microscopic lung lesions in slaughter pigs from farrow-to-finish herds. *Veterinary Record* 148: 41–46.
- Martin SW, Shoukri M and Thorburn MA (1992). Evaluating the health status of herds based on tests applied to individuals. *Preventive Veterinary Medicine* 14: 33–43.
- Martínez LA, Correa P, Rosales F, et al. (1986). Títulos de anticuerpos inhibidores de la hemoaglutinación (IH) contra el paramixovirus de La Piedad, Michoacán (LPM) en cerdos de diferentes edades. *Proc Int Pig Vet Soc Congr* 9th: 313.
- Martínez LA, Coba MA, Gomes L, Diosdado F, Córdova D, Socci G, Cuevas S, Santiago J, Carrera E and Zapata LE (2014). Isolation of BEDV from pigs with respiratory diseases, decreased growth rates, and without characteristic signs of BED. *Proc Int Pig Vet Soc Congr* 23th: 326.
- Mastin, A., Alarcon, P., Pfeiffer, D., Wood, J., Williamson, S., Brown, I, Wieland B., and COSI Consortium. (2011). Prevalence and risk factors for swine influenza virus infection in the English pig population. *PLoS currents*: 3.
- McNeilly F, Walker I, Allan, et al. (1997). A comparative study on the use of a virus and antibody detection techniques for the diagnosis of La Piedad, Michoacán paramyxovirus (LPMV) infection in pigs. *J Vet Diagn Invest* 9:3–9.
- Moreno A, Lopez-Moreno S, & Corcho-Berdugo A. Principales medidas en epidemiología. *Salud pública Méx*[online]. 2000, vol.42, n.4 [cited 2015-04-08], pp. 337-348. Available from: <http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342000000400009&lng=en&nrm=iso>. ISSN 0036-3634. <http://dx.doi.org/10.1590/S0036-36342000000400009>
- Moreno-López J., Correa-Girón P., Martínez A., Ericsson A. (1986) Characterization of a paramyxovirus isolated from the brain of a piglet in Mexico. *Arch Virol*. (91): 221-231.

- Morilla A (1997). Manual para el control de las enfermedades de los cerdos. Patronato de Investigación y Experimentación Pecuaria, AC (PAIEPEME), México, DF.
- Morilla A, Diosdado F, Corona E, et al. (1995). Perfiles serológicos de granjas porcinas infectadas con el virus de la enfermedad de Aujeszky. *Tec Pecu Mex* 33:92–99.
- Morrison T, Portner A (1991). Structure, function and intracellular processing of the glycoproteins of Paramyxoviridae. The Paramyxoviruses, D. W Kingsbury, 1991, Plenum Press, New York: 347-382.
- Nordengrahn A, Svenda M, Moreno-Lopez J, et al. 1999. Development of a blocking ELISA for screening antibodies to porcine rubulavirus, La Piedad Michoacán Virus. *J Vet Diagn Invest* 11:319–323.
- Norrby E, Enders-Ruckle G, Meulen V. (1975). Differences in the appearance of antibodies to structural components of measles virus after immunization with inactivated and live viruses. *J Infect Dis* 132:262–269.
- Paterson RG, Lamb RA, Moss B, Murphy BR (1987). Comparison of the relative roles of the F and HN surface glycoproteins of the paramyxovirus simian virus 5 in inducing protective immunity. *J Virol* 61:1972–1977.
- Pointon AM, Heap P and McCloud P (1985). Enzoootic pneumonia of pigs in South Australia—factors relating to incidence of disease. *Australian Veterinary Journal* 62: 98–101.
- Poljak Z, Dewey E, Martin W, Christensen J, Carman S, and Friendship M. (2008). Prevalence of and risk factors for influenza in southern Ontario swine herds in 2001 and 2003. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 72 (1), 7.
- Ramírez H, Carreón R, Mercado C, Rodríguez J (1996). 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, 257–259.
- Ramírez H, Hernández J, Reyes-Leyva J, Zenteno E, Moreno-López J, Kennedy S (1997). Lesions in the reproductive tract of boars experimentally infected with porcine rubulavirus. *J. Comp. Path.* 117: 237-252.
- Reyes-Leyva J, Espinosa B, Hernández J, Zenteno R, Vallejo V, Hernández – Jauregui P, Zenteno E (1997). NeuAz- α -2,3Gal glycoconjugate expression determinates cell susceptibility to the porcine rubulavirus LPMV. *Comp. Biochem. Physiol.* 118B: 327- 332.

- Reyes-Leyva J, Espinosa B, Santos G, Zenteno R, Hernández J, Vallejo V, Zenteno E (1999). Purification and characterization of the hemagglutinin-neuraminidase of Porcine rubulavirus LPMV. *Glycoconj. J.* 16:517-22.
- Reyes-Leyva, J, Santos, G., Hernández, J., Espinosa, B., del Tránsito Borraz, M., Ramírez, H., Zenteno, E. (2002). Mecanismos moleculares de la patogenicidad viral: estudios con el rubulavirus porcino. *Mensaje bioquímico*, 26.
- Rima B, Alexander DJ, Billeter MA et al. (1995). Family Paramyxoviridae. En: Murphy FA, Fauquet CM, Bishop DHL et al. (Eds). *Virus Taxonomy. Classification and nomenclature of viruses* Springer-Verlag. Viena Nueva York. pp. 265-274.
- Rosales F, Ramos I, Sánchez-Mejorada P, Correa P. (1987). Presencia de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación contra el paramixovirus porcino de La Piedad, Michoacán en cerdos encefalíticos con y sin opacidad corneal. *In: Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México*, pp 79–80.
- Santos G (2000) Purificación parcial y estudio de las actividades biológicas de la Hemaglutinina-Neuraminidasa de cepas del *Rubulavirus porcino* de virulencia variante. (Tesis de maestría) Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla.
- Spriggs MK, Collins PL, Tierney E, et al. (1988). Immunization with vaccinia virus recombinants that express the surface glycoproteins of human parainfluenza virus type 3 (PIV3) protects monkeys against PIV3 infection. *J Virol* 62:1293–1296.
- Stephano A (1998). An outbreak of blue eye disease associated with PRRS. Retrieved from the University of Minnesota Digital Conservancy. Disponible en: <http://purl.umn.edu/148368>
- Stephano A (1999). Blue eye disease. In: Straw Be, D' Allaire S, Mengeling WL, Taylor DJ editors. *Diseases of swine*. 8th. Ed. Ames Iowa, USA: Iowa, State University, Press: 103-112.
- Stephano A (1999). Blue eye disease. In: Straw Be, D' Allaire S, Mengeling WL, Taylor DJ editors. *Diseases of swine*. 8th. Ed. Ames Iowa, USA: Iowa, State University, Press: 103-112.
- Stephano A (2000). La enfermedad del ojo azul. Signos clínicos y lesiones. *Memorias del Simposium Internacional sobre Enfermedades Emergentes del Cerdo*. Irapuato, Gto. México. pp. 1-10.

- Stephano A (2002). Blue eye disease: clinical signs and lesions. In: Morilla, A., K. Yoon, and J. Zimmerman (eds), Trends in Emerging Viral Infections of Swine. Iowa State University Press, USA: 47–50.
- Stephano A, Gay G (1983). El síndrome del “ojo azul” estudio experimental. Mem. Reunión de Investigación Pecuaria en México, D.F.: 523-528.
- Stephano A, Gay G (1985). Síndrome del ojo azul en cerdos. *Síntesis porcina*, México, D.F.; 4 (5): 42-49.
- Stephano A, Gay G. (1986). Encefalitis, Falla reproductiva y opacidad de la cornea, ojo azul. *Síntesis porcina*, 5 (12): 26-39.
- Stephano A, Gay G, Ramírez C. (1988). Encephalomyelitis, reproductive failure and corneal opacity (blue eye) in pigs, associated with a paramyxovirus infection. *Vet. Rec.* 122: 6-10.
- Stephano A, Hernández D, Pérez C, González C, Ramírez M, Cervantes A (1990). Boar infertility and testicular atrophy associated with blue eye paramyxovirus infection. Proc of the 11th IPV Congress. Lausanne, Switzerland: 211.
- Stephano A, Rodríguez H, Peralta R. (1984). Análisis de un brote de angiopatía cerebro espinal (enfermedad del edema) y síndrome del ojo azul en cerdos de una granja engordadora. Mem. II Congreso Nacional AMVEC. Mazatlán, Sinaloa, México: 102-104.
- Svenda M, Berg M, Moreno – López J, Linné T (1997) Analysis of the large (L) protein gene of the porcine rubulavirus LPMV: identification of possible functional domains. *Virus Research* 48: 57-70.
- Taylor J (1999). Pig diseases. 7th Ed. Great Britain.
- Taylor J (2013). Pig diseases. 9th Ed. Great Britain.
- Thrusfield M (2007). Veterinary epidemiology. 3th Ed. Blackwell publishing, Great Britain.
- Yang Z, Kong Y, Wilson F, Foxman B, Fowler ., Marrs C & Bates H. (2004). Identification of risk factors for extrapulmonary tuberculosis. *Clinical infectious diseases*, 38(2), 199-205.
- Zamora J, Martínez A, Correa P, Colinas A (1990). Estudio preliminar, en cerdos, de 2 vacunas inactivadas experimentales, elaboradas con el paramixovirus porcino de La Piedad, Michoacán. Mem XXV Congreso Nacional “AMVEC 90”. Puerto Vallarta, Jalisco, México: 61-64.

- Zenteno-Cuevas R (1997). Purificación y predicción de determinantes antigénicos y de estructura secundaria en la hemaglutinina-neuraminidasa del paramixovirus porcino de La Piedad Michoacán. Tesis de Maestría, Facultad de Medicina, UNAM, México D.F.
- Zhang, J., & Kai, F. Y. (1998). What's the relative risk?: A method of correcting the odds ratio in cohort studies of common outcomes. *Jama*, 280(19), 1690-1691.

X. Anexos

Anexo 1: Imagen tomada de Morilla *et al.*, 2004. Seroepidemiology of blue eye disease.

States	Positive/Total	%	References
Aguascalientes	3/47	6.4	Carrero <i>et al.</i> 1998
	0/24	0	(survey 1999-2000)
Baja California Norte	0/27	0	Carrón and Escobar 2001
	0/34	0	Fuentes <i>et al.</i> 1992
	0/24	0	Carrero <i>et al.</i> 1998
Baja California Sur	0/43	0	Carrero <i>et al.</i> 1998
Campeche	95/107	88.7	Fuentes <i>et al.</i> 1992
	0/43	0	Carrero <i>et al.</i> 1998
	0/31	0	Merado <i>et al.</i> 1998
Coahuila	0/36	0	Carrón and Escobar 2001
	0/55	0	Fuentes <i>et al.</i> 1992
	0/9	0	Carrero <i>et al.</i> 1998
	0/190	0	Merado <i>et al.</i> 1998
Colima	5/35	22.8	Fuentes <i>et al.</i> 1992
	0/43	0	Carrero <i>et al.</i> 1998
	0/85	0	(survey 1999-2000)
Chiapas	0/20	0	Fuentes <i>et al.</i> 1992
	1/59	1.7	Carrón <i>et al.</i> 1998
	0/190	0	Merado <i>et al.</i> 1998
	11/378	1.4	(survey 1999-2000)
Chihuahua	0/42	0	Carrón and Escobar 2001
	0/47	0	Fuentes <i>et al.</i> 1992
	0/85	0	Carrón <i>et al.</i> 1998
Distrito Federal	0/2	0	Fuentes <i>et al.</i> 1992
	0/13	0	Merado <i>et al.</i> 1998
	7/109	6.4	(survey 1999-2000)
Durango	0/11	0	Fuentes <i>et al.</i> 1992
	0/51	0	Carrón <i>et al.</i> 1998
	0/22	0	Merado <i>et al.</i> 1998
Guatemala	23/48	47.9	Carrón and Escobar 2001
	37/107	34.6	Fuentes <i>et al.</i> 1992
	1/46	2.2	Carrero <i>et al.</i> 1998
	125/455	27.5	Merado <i>et al.</i> 1998
	1915/6618	29.1	(survey 1999-2000)
Guerrero	45/78	57.7	Fuentes <i>et al.</i> 1992
	0/59	0	Carrero <i>et al.</i> 1998
	0/1	0	Merado <i>et al.</i> 1998
Hidalgo	0/42	0	Fuentes <i>et al.</i> 1992
	0/13	0	Carrero <i>et al.</i> 1998
	0/21	0	Merado <i>et al.</i> 1998
	34/184	18.5	(survey 1999-2000)
Jalisco	52/63	82.5	Carrón and Escobar 2001
	302/1013	29.8	Fuentes <i>et al.</i> 1992
	0/33	0	Carrón <i>et al.</i> 1998
	701/6705	10.4	Merado <i>et al.</i> 1998
	1627/8375	19.4	(survey 1999-2000)
Estado de México	56/133	42.1	Fuentes <i>et al.</i> 1992
	0/42	0	Carrero <i>et al.</i> 1998
	159/1534	10.4	Merado <i>et al.</i> 1998
	100/2327	4.3	(survey 1999-2000)
México DF	15/15	100	Carrón and Escobar 2001
	28/66	42.4	Fuentes <i>et al.</i> 1992
	1/15	6.7	Carrero <i>et al.</i> 1998
	21/57	36.8	Merado <i>et al.</i> 1998
	124/750	16.4	(survey 1999-2000)
Moravia	2/34	5.9	Fuentes <i>et al.</i> 1992
	13/250	5.2	Merado <i>et al.</i> 1998
Nayarit	0/69	0	Carrero <i>et al.</i> 1998
	0/39	0	Merado <i>et al.</i> 1998
	0/1	0	(survey 1999-2000)
Nuevo León	0/44	0	Fuentes <i>et al.</i> 1992
	0/75	0	Carrero <i>et al.</i> 1998
	0/12	0	Merado <i>et al.</i> 1998
	0/148	0	(survey 1999-2000)

States	Positivity Tested	%	References
Oaxaca	1/25	3.4	Comas et al. 1993
	0/1	0	Mendoza et al. 1993
Puebla	19/218	14.0	Fuertes et al. 1992
	0/129	0	Comas et al. 1993
	11/448	2.4	Mendoza et al. 1993
Queretaro	1/1182	0.1	(survey 1995-2000)
	30/62	47.5	Carroll and Buesche 1998
	131/526	24.0	Fuertes et al. 1992
	2/16	3.0	Comas et al. 1993
	11/557	5.0	Mendoza et al. 1993
Quintana Roo	498/2617	12.5	(survey 1995-2000)
	11/25	68.0	Fuertes et al. 1992
	0/42	0	Comas et al. 1993
San Luis Potosí	0/77	0	Mendoza et al. 1993
	0/28	0	Fuertes et al. 1992
	0/28	0	Comas et al. 1993
	0/56	0	Mendoza et al. 1993
Sinaloa	0/162	0	(survey 1995-2000)
	0/59	0	Buenos et al. 1997
	0/44	0	Comas et al. 1993
	0/5	0	Mendoza et al. 1993
Sonora	0/116	0	(survey 1995-2000)
	0/16	0	Carroll and Buesche 1998
	128/200	63.7	Fuertes et al. 1992
	0/203	0	Comas et al. 1993
	0/175	0	Mendoza et al. 1993
Tabasco	0/54	0	(survey 1995-2000)
	17/63	75.4	Comas et al. 1993
	0/55	0	(survey 1995-2000)
	0/25	0	Comas et al. 1993
Tlaxcala	0/55	0	Mendoza et al. 1993
	15/50	26.0	Comas et al. 1993
Veracruz	0/7	0	Mendoza et al. 1993
	84/121	63.4	(survey 1995-2000)
	0/12	0	Fuertes et al. 1992
Yucatán	0/10	0	Comas et al. 1993
	0/10	0	Mendoza et al. 1993
	70/704	0	(survey 1995-2000)
	0/25	0	Fuertes et al. 1992
Zacatecas	0/67	0	Comas et al. 1993
	0/46	0	Mendoza et al. 1993
	0/26	0	(survey 1995-2000)
	0/20	0	Fuertes et al. 1992
TOTAL (by diagnosis)	117/150	62.0	Comas et al. 1993
	0/70	0	Mendoza et al. 1993
	120/362	33.1	Carroll and Buesche 1998
	666/1871	28.8	Buenos et al. 1997
	71/1780	4.0	Comas et al. 1993
1061/11466	9.2	Mendoza et al. 1993	
4453/27713	16.0	(survey 1995-2000)	

Anexo 2. Protocolo de la prueba de inhibición de la hemaglutinación OA e influenza

IH DE EOA

- Para adsorber y eliminar inhibidores inespecíficos de la hemoaglutinación, los sueros fueron tratados de la siguiente manera:
- En una placa de 96 pozos de fondo en “V” se ponen 200 µl del suero, se adicionan 100 µl de caolín y 100 µl de eritrocitos de bovino al 5% y se deja incubar a 4°C durante 24 horas.
- Ya adsorbidos los sueros, se depositaron en microplacas de 96 pozos con fondo en “U”, se agregaron 50 µl de PBS (solución de fosfatos con pH de 7.2) en todos los pozos; 50 µl del suero problema (sobrenadante) en la línea “A”, se realizaron diluciones dobles seriadas de la línea A a la H y se eliminan al final 50 µl. En este momento se debe considerar que las dos últimas hileras sirvan como controles (+ y -).
- Posteriormente se adicionan 50 µl de antígeno viral con 8 UHA en cada pozo a partir de la línea A hasta la H, se incuban durante 30 minutos a temperatura ambiente y se adicionan 50 µl de eritrocitos de bovino al 0.5%, en cada pozo. Por último se deja incubar a temperatura ambiente de 30 a 60 minutos.
- Como control positivo se utiliza una hilera por placa de un suero con un título conocido de anticuerpos inhibidores de la hemoaglutinación; PBS, antígeno viral y eritrocitos. En este caso se considera la muestra como positiva al observar un botón formado al sedimentarse los eritrocitos.
- Como control negativo se adiciona de un suero de cerdo conocido que no contiene anticuerpos contra el Rubulavirus porcino y se agregó además PBS, antígeno viral y eritrocitos. En este caso como no había

anticuerpos el antígeno se unió a los eritrocitos y hubo hemoaglutinación.

- En la prueba de IH se considera que un suero es positivo cuando presenta un título igual o mayor a 1:16 (Ramírez et al., 1996).

IH DE INFLUENZA

Prueba de inhibición de la hemoaglutinación (IH)

Esta prueba se realizó de acuerdo al procedimiento descrito por Snyder (1989).

- Se utilizó placas de micro titulación de 96 pozos de fondo en “U”.
- Se colocó 50 µl de PBS en toda la placa.
- Se colocó 50 µl de cada uno de los sueros en la fila “A”.
- Se realizaron diluciones dobles seriadas de la fila “A-H”.
- Se colocó 50µl de antígeno de VIP previamente diluido con 8 UH de la fila “B-H” y se dejó incubar a temperatura ambiente por 30min.
- Se colocó 50µl de suspensión de eritrocitos de ave al 0.5 % a toda la placa y se dejó incubar a temperatura ambiente hasta que sedimentaron los eritrocitos para poder realizar la lectura.
- Se colocó un testigo de virus con 50µl de PBS + 50µl de antígeno + 50µl de suspensión de eritrocitos de ave al 0.5%.
- Se colocó un control de eritrocitos con 50µl de PBS + 50µl de suspensión de eritrocitos de ave al 0.5%.
- Las diluciones de los sueros fueron a partir de 1:10 hasta 1:1280 y se consideraron positivas aquellas muestras con un título mayor o igual a 1:80.

Anexo 3. Cuestionario elaborado para la detección de factores de riesgo.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**CUESTIONARIO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LOS FACTORES DE RIESGO PARA LA INFECCIÓN
POR EL RUBULAVIRUS PORCINO EN GRANJAS DEL BAJIO MEXICANO**

*El presente cuestionario tiene como finalidad la elaboración de una tesis de maestría, por lo que los datos personales proporcionados son confidenciales y no se revelara el nombre de la granja ni los resultados. Gracias por su cooperación.

Fecha: _____

Nombre de la granja: _____

Nombre del propietario, encargado o Medico responsable: _____

Estado: _____ Municipio: _____

Dirección: _____

Contacto (teléfono, correo): _____

1. Fin zootécnico de la granja

- a) Pie de cría
- b) Engordadora
- c) Ciclo completo
- d) Granja productora de lechones

2. Número de animales existentes en la granja

- a) Numero de hembras: _____
- b) Numero de lechones en destete: _____
- c) Numero de cerdos en engorda: _____
- d) Numero de sementales: _____

3. Días al sacrificio:

- a) 147 días o menos
- b) 148 a 167 días
- c) Más de 168 días

4. Edad al destete

- a) Menor a 21 días
- b) 21 a 27 días
- c) 28 días o mas

5. Cuenta con programa de alimentación por etapas (SI) (NO)

6. Uso de inseminación artificial:

- a) Inseminación 100%
- b) Inseminación variable
- c) No se realiza inseminación artificial

7. Origen del pie de cría

- a) Raza pura
- b) Hembras F1 o machos terminales
- c) Otra: _____

8. Porcentaje de mortalidad en MATERNIDAD:

- a) Menor al 3 %
 - b) De 3 a 7 %
 - c) Mayor de 7 %
9. **Porcentaje de mortalidad en DESTETE:**
- a) Menor al 3 %
 - b) De 3 a 6 %
 - c) Mayor de 6 %
10. **Porcentaje de mortalidad en ENGORDA:**
- a) Menor al 2 %
 - b) De 2 a 5 %
 - c) Mayor de 5 %
11. **El flujo de los animales es:**
- a) Flujo continuo
 - b) Sitios múltiples
 - c) Sistema todo dentro - todo fuera
 - d) Combinación de b y c
12. **¿A qué distancia se encuentra la granja de rastros y otras granjas porcinas?**
- a) Menos de 1 km
 - b) Entre 1 y 3 km
 - c) Más de 3 km
13. **Existe un control de acceso de personas y vehículos** (SI) (NO)
14. **Existe un control de visitas** (SI) (NO)
15. **El baño es obligatorio antes del acceso para trabajadores y visitantes** (SI) (NO)
16. **La ropa y botas son de la granja** (SI) (NO)
17. **Cuenta con tapetes sanitarios a la entrada de cada aérea** (SI) (NO)
18. **Los tapetes se mantienen limpios y con desinfectante** (SI) (NO)
19. **¿Qué desinfectante utiliza?**
-
20. **La granja tiene área de cuarentena** (SI) (NO)
21. **Qué tiempo permaneces los animales en los corrales de cuarentena**
- a) Menos de 30 días
 - b) 30 a 60 días
 - c) Más de 60 días
22. **La gente que trabaja en el área de cuarentena tiene contacto con otros animales de la granja** (SI) (NO)
23. **Piden certificado de salud de los animales que llegan a la cuarentena** (SI) (NO)
24. **Se realiza muestreo serológico de patógenos específicos de interés** (SI) (NO)
Especifique: _____
25. **Hay cerca perimetral** (SI) (NO)
26. **Cuenta con edificios para cada etapa de producción** (SI) (NO)
27. **¿Se han realizado pruebas diagnósticas para detectar la enfermedad de ojo azul?**
(SI) (NO) ¿Cuáles?
28. **El resultado de esta prueba fue:**

- a) Positivo
 - b) Negativo
29. **Tiene conocimiento de la existencia de alguna de estas enfermedades en la granja**
- a) PRRS
 - b) Circovirus
 - c) Influenza
30. **Los animales en la granja presentan alguno de estos signos:**
- a) Opacidad corneal
 - b) Hembras con falla reproductiva (retorno al estro, menos lechones nacidos vivos, reducción de la tasa de partos)
 - c) Machos con atrofia testicular, epididimitis u orquitis.
 - d) Problemas neurológicos en lechones.
31. **Se vacuna a los animales contra la enfermedad de ojo azul** (SI) (NO)
32. **¿Qué tipo de vacuna se utiliza?**
- a) Comercial
 - b) Laboratorio
 - c) Autovacunas
33. **Especifique el calendario de vacunación, que utiliza para esta enfermedad:**
- _____
34. **Los animales de la granja. ¿presentan los signos clínicos antes mencionados aun con la vacunación?** (SI) (NO)
35. **¿Existe algún mes del año en la que se presenten más casos de la enfermedad de ojo azul?**
(SI) (NO) ¿Cuál es? _____
36. **Se vacuna a los animales contra la enfermedad de influenza** (SI) (NO)
37. **¿Qué tipo de vacuna se utiliza?**
- d) Comercial
 - e) Laboratorio
 - f) Autovacunas
38. **Especifique el calendario de vacunación, que utiliza para esta enfermedad:**
- _____

No.	Identificación	Sexo	No.	Identificación	Sexo
1			16		
2			17		
3			18		
4			19		
5			20		
6			21		
7			22		
8			23		

9			24		
10			25		
11			26		
12			27		
13			28		
14			29		
15			30		