

100
209



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"CUAUTITLAN"

ESTUDIO RETROSPECTIVO DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS INHIBIDORES DE LA HEMAGLUTINACION CONTRA EL Paramyxovirus porcino DE LA PIEDAD, MICHOACAN (LPM), APARENTEMENTE ASOCIADO CON EL SINDROME DEL OJO AZUL, EN SUEROS DE CERDOS COLECTADOS DE 1972 A 1986

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

JOSE ANDRES FRANCISCO ROSALES ESPINOSA

ASESOR: M. V. Z. M .A. PABLO CORREA G.

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO

1987



V. N. A. M.



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

Resumen	1
Introducción	3
Características de la enfermedad	3
Características de los paramixovirus	25
Características de la inhibición de la hemaglutinación	35
Objetivos	38
Material y métodos	39
Resultados	50
Apéndice	75
Discusión	76
Conclusiones	79
Literatura citada	81

En esta tesis se trabajaron 1742 sueros de cerdos de ambos sexos, con peso y edad variable; colectados en el periodo comprendido entre 1972 y 1986; y de diversas procedencias. Los cuales fueron conservados en congelación a -20 C desde su fecha de colección original. Todos los sueros se diluyeron 1:5; se adsorbieron -- con 0.1 g de caolín quemado y lavado; y se inactivaron a 56 C durante 30 minutos en baño María. El antígeno se preparó a partir del Paramyxovirus porcino LPM, el cual aparentemente se encuentra asociado con el Síndrome del Ojo Azul, y fue titulado por hemaglutinación ante eritrocitos de gallo al 0.5%, para emplear de 4 a 8 unidades hemaglutinantes (UHA) en las pruebas de inhibición de la hemaglutinación (IH); las cuales se realizaron por la técnica de microtitulación. En cada prueba se usaron como controles dos sueros conocidos, positivo y negativo.

De los 1742 sueros estudiados mediante IH, hubo 161 (9.24%) sueros positivos; de los cuales 73 (4.19%) mostraron un título de 1:20; 1 con título de 1:30 (.05%); 28 de 1:40 (1.6%); 34, 1:80 (1.95%); 6, 1:160 (.34%); 8, 1:320 (.45%); 8, 1:640 (.45%) y 3 con título de 1:1280 (.17%). Hubo 1061 sueros que resultaron negativos (60.9%). Por otra parte, hubo 520 sueros (29.85%) que se consideraron sospechosos por mostrar títulos que variaron entre 1:5 y 1:15.

Al analizar los resultados obtenidos se observó una ocurrencia de positividad a la prueba de IH de la siguiente manera: 1972, 53/153; 1974, 33/55; 1975, -- 2/29; 1977, 9/88; 1978, 3/91; 1979, 2/84; 1982, 2/237; 1983, 12/291 y 1985, 75/-- 168. Estos sueros procedían de Tehuacán, Pue.; Jiutepec, Mor.; La Piedad, Mich.; Celaya, Gto.; Atizapán, Texcoco, Cuautitlán y Toluca (colectado en el Rastro de Tlalnepantla, Edo. de México), Estado de México; y del Estado de Sonora (colectado también en el Rastro de Tlalnepantla). El título más alto detectado fue de --- 1:1280 en 3 sueros de La Piedad, Mich., del año 1985.

Para comprobar los resultados obtenidos mediante IH, se realizó la prueba de seroneutralización (SN) a 22 sueros del año 1972; 2 del año 1975; y 9 de -- 1977; empleando para ello 30 unidades formadoras de efecto citopático (UFEC). Se observó un fuerte efecto tóxico para las células; sin embargo, al hacer las diluciones del suero, la toxicidad disminuyó, pudiendo observarse cierto grado de neutralización en 8 sueros del año 1972, procedentes de Atizapán, Méx.; y - en 3 sueros del año 1977, procedentes de Texcoco, Méx. Al repetir la prueba, las observaciones fueron similares, siendo más manifiesta la neutralización en un suero del año 1972. Al estudiar por SN algunos de los sueros que resultaron positivos a la IH, se intentó descartar la posible presencia de anticuerpos in específicos en los sueros; los cuales pudieran propiciar el que se manifesta-- ran como falsos positivos en las pruebas de IH. La toxicidad presente en los 33 sueros estudiados mediante SN, evitó evaluar claramente las observaciones.

INTRODUCCION

I.- CARACTERISTICAS DE LA ENFERMEDAD

En general aún se desconoce mucho acerca de este síndrome (27) que es nuevo en nuestro país y del cual no hay reportes en otros países. Han habido comunicaciones que tratan de describir la enfermedad en cuanto a su morbilidad, curso, - signos clínicos, epidemiología, patogenia, etc. Sin embargo, no existen a la fecha suficientes trabajos con un diseño experimental correcto, que demuestren sin dejar lugar a dudas los datos sobre cada uno de estos aspectos. Se puede apreciar que no ha habido uniformidad de criterios, dado que las observaciones son un tanto aisladas, y muchas de ellas no han sido corroboradas por diferentes grupos de investigadores. Al respecto se transcribirán algunas de estas observaciones de campo, y de investigaciones experimentales.

HISTORIA.-

Los primeros informes de esta enfermedad en México, datan de 1981, año en el que Campos (1981) es el primero en referirse al "Síndrome del Ojo Azul" para denominar un fenómeno o proceso patológico que observó aproximadamente a partir de principios de 1980, en cerdos de engorda en cualquier etapa, en animales reproductores y en lechones al nacimiento. Los animales eran afectados en los ojos (generalmente uno, y ocasionalmente los dos), los cuales adquirían un color azul opaco (turquesa). En un principio pensó que correspondía a una deficiencia de vitamina A, intoxicación por metionina, queratitis bacteriana y/o queratitis viral; sin embargo, al enfocar el tratamiento por estos caminos no se obtuvieron resultados favorables. De estas observaciones se diagnosticó queratitis por deficiencia de riboflavina, y se emitió la teoría de que esto podría deberse a:

- 1) Una intoxicación por insecticidas organoclorados.
- 2) Por el uso de pasta de soya con residuos de solventes.
- 3) Por conservadores de harina de pescado organoclorados (probablemente) o fenoles.

Campos menciona que se basó para afirmar esto, en que al tratar con inyecciones de vitamina B-2 y preparados de complejo B hubo recuperación de los animales afectados (1).

En otra comunicación, Campos et al. (1982) además de enlistar nuevamente los signos clínicos, señala que hay lagrimeo y ceguera en uno o ambos ojos. La enfermedad presentó morbilidad de aproximadamente 30-40% y mortalidad de 1% o menor. La afección predisponía a los cerdos a tener otras infecciones, tales como cólera porcino y neumonía. A la necropsia encontró lesiones oculares con engrosamiento y opacidad de la córnea afectada; hígado muy afectado, de color amarillo ocre, con cirrosis e inflamación. Microscópicamente se encontró cirrosis focal con hepatodistrofia. El diagnóstico correspondió a una hepatodistrofia, por probable intoxicación con agentes químicos. Al realizar pruebas de toxicología con muestras de sorgo, soya, leche, harina de pescado y alimento comercial (purina) como testigo; se encontró que en el sorgo había 4 ppm de insecticidas. Al alimentar grupos de 5 ratones con los elementos mencionados, y al observarlos durante 4 semanas, se notó que murieron 2 ratones del grupo alimentado con soya, presentando distrofia del hígado; de los alimentados con sorgo murieron 4 ratones, presentando la misma lesión; de los alimentados con harina de pescado murieron 2 de clostridiasis; mientras que de los alimentados con leche y con el alimento comercial (testigo), no murió ningún ratón (2).

Se mencionó como tratamiento para los cerdos afectados en condiciones naturales, el agregar al alimento vitaminas del complejo B, especialmente; riboflavina, tiamina, niacina, nicotinamida y ácido fólico. Se indica que en los trata

mientos individuales los animales afectados tienen que ser inyectados con extracto de hígado y con vitaminas del complejo B. Se señala que con este tratamiento obtuvieron resultados satisfactorios, ya que en los cerdos tratados el ojo afectado retornó a su condición normal (2). Los autores concluyeron que el agente -- etiológico fueron los pesticidas o los solventes organoclorados presentes en las semillas (2).

Por otra parte, Stephano et al. (1981) comunican que en mayo de 1980 se observó en La Piedad, Mich., un brote con duración de 9 semanas, de una encefalitis en lechones de 4 a 10 días de edad, con características clínicas y patológicas diferentes a las observadas previamente en México. La morbilidad fue de 20% y la mortalidad del 90%, muriendo aproximadamente 600 lechones, entre los 2 y 7 días después de los primeros signos. Los signos más sobresalientes fueron incoordinación, temblores musculares, postración, movimientos de carrera y opacidad de la córnea (41) uní o bilateral, además de ataxia y conjuntivitis (42). Los únicos cambios macroscópicos observados en algunos lechones fueron: neumonía que afecta ba los lóbulos apicales y cardiacos, conjuntivitis y opacidad de la córnea uní o bilateral (42). Las lesiones microscópicas correspondieron a meningoencefalitis no supurativa y neumonía intersticial (41, 42). Se debe hacer mención de que en estos primeros reportes no se hace referencia a la presencia de signos respiratorios. Se cita el aislamiento de un virus hemaglutinante (41, 42), aunque no se -- señala a partir de que órgano. El virus hemaglutinante produjo efecto citopático (ECP) con formación de sincitios, en cultivos celulares de riñón de cerdo (41), cultivos celulares primarios de riñón de cerdo y en la línea celular PK-15 (42).

De un encéfalo conservado en refrigeración se logró el aislamiento de un vi rus parecido a los Paramyxovirus en monoestratos de células de las siguientes -- líneas celulares: cornete bovino (BT), riñón bovino (MDBK) y riñón porcino ---rr (PK-15). En las 2 primeras el ECP se observó, desde el primer pase, a las 30-48

horas de inoculación, en las células PK-15 el ECP se observó, en el primer pase, hasta los 5 días de inoculación (14, 15). Cuando estas células se tiñeron con -- conjugado de cólera porcino no se observó fluorescencia. Al realizar la prueba -- de seroneutralización ante un suero hiperinmune a pseudorrabia, el virus aislado no fue neutralizado. Se realizó hemaglutinación y se observó que fue positiva -- con glóbulos rojos de cuye y ovino con título de 1:40, con glóbulos rojos de conejo hubo ligera aglutinación, detectable al microscopio con bajo aumento. Al -- hacer microscopía electrónica mediante la técnica de tinción negativa, se observaron estructuras con morfología parecida a la de los Paramyxovirus, con tamaño aproximado de 165 nm, y con proyecciones cortas en la periferia, de distribución homogénea (14, 15).

Los autores de este trabajo (Martínez y colaboradores, 1985 a, b), llegaron a la conclusión de que el virus aislado presentó ciertas semejanzas con el reportado anteriormente por Stephano y colaboradores, como productor del Síndrome del Ojo Azul (14, 15). Aunque a la fecha, no se han correlacionado ambos agentes.

ETIOLOGIA.-

En 1986, Moreno-López y colaboradores caracterizaron al virus aislado por -- Martínez et al., 1985 a, b (14, 15), y lo denominaron virus LPM (La Piedad, Michoacán) (21).

Stephano y Gay (1986 d), comunicaron el logro de 12 aislamientos de diferentes brotes ocurridos de 1980 a 1986 en varios estados. Se realizaron 7 aislamientos de granjas de ciclo completo, y 5 en granjas de engorda. No encontrando diferencias morfológicas por microscopía electrónica, ni serológicas entre los 12 -- aislamientos. Los 5 aislamientos de granjas de engorda ocasionaron mayor número de sincitios en cultivo celular PK-15; observando diferencias en cuanto a virulencia entre el aislamiento de 1980 (el cual no ocasionó signos clínicos en ani-

males), y el de 1984 que ocasionó incoordinación y conjuntivitis en cerdos inoculados experimentalmente (38).

Es importante señalar la posibilidad de otros agentes involucrados en la -- etiología de la enfermedad (27).

Para dar un panorama general de la múltiple etiología que se presenta presumiblemente en muchos brotes encefalíticos de campo, se transcribirán algunos informes hechos al respecto por Stephano y colaboradores (30).

Se ha observado 30% de mortalidad en cerdos de engorda, por enfermedades del sistema nervioso (30). Los resultados obtenidos al realizar necropsias y estudios de laboratorio a 35 cerdos muertos en forma natural o sacrificados pero con signos nerviosos, son los siguientes (30):

1. Síndrome del ojo azul.
2. Enfermedad del edema.
3. Cólera porcino.
4. Enfermedad de Aujeszky.
5. Encefalitis por Streptococcus spp.

Además de las señaladas, que producen signos nerviosos, se diagnosticaron -- las siguientes enfermedades y lesiones:

6. Neumonía enzoótica.
7. Pleuroneumonía por Haemophilus pleuroneumoniae.
8. Pasteurellosis.
9. Rinitis atrófica.
10. Matastrongylosis.
11. Erisipela.
12. Salmonelosis.
13. Ascariasis por Ascaris suum.
14. Trichuriasis.

15. Nefritis por Leptospira spp.
16. Absesos.
17. Cistitis supurativa.
18. Hidronefrosis.
19. Enfermedad del corazón de mora.

En todos los casos se diagnosticó cuando menos una de las 5 enfermedades del sistema nervioso señaladas, asociada a una o más de las otras enfermedades enlistadas. Por otra parte, en 2 casos en que se aisló el virus del ojo azul, había anticuerpos contra la enfermedad de Aujeszky (30).

En 1984, Stephano, Rodríguez y Peralta (1984 b); analizaron un brote (al parecer combinado) de enfermedad del edema y síndrome del ojo azul, en una granja de engorda, donde se diagnosticó más de una enfermedad por animal, en orden de frecuencia: enfermedad del edema (9), síndrome del ojo azul (8), neumonía enzoótica (8), salmonelosis (6), pleuroneumonía por Haemophilus spp. (4), nefritis -- por Leptospira spp. (4), migración de larvas de Ascaris sp. (4), rinitis atrófica (3), encefalitis por Streptococcus spp. (2), enteritis por Trichuris sp. (2), cólera porcino (1), erisipela (1), metastrongylosis (1) y cistitis supurativa -- con hidronefrosis (1). Esto a partir de 13 necropsias de cerdos clínicamente enfermos (43).

CULTIVO.-

El virus muestra poca especificidad de huésped in vitro, pudiendo ser replicado en embrión de pollo, y en las siguientes líneas celulares: testículo de cerdo, VERO (riñón de mono verde africano), riñón de gato, embrión bovino, riñón de hamster lactante y dermis equina; así como cultivo primario de tiroides bovina; en las cuales causa cambios citopáticos (40). Otros autores (21) han encontrado que también en los siguientes tipos celulares el virus produce ECP: 1) de cerdo:

de cornete, plexo coroideo e IBRS; 2) de bovino: de cornete, riñón, testículo, piel, palatinas y de plexo coroideo; 3) de mono: células GMK; 4) además de pulmón de visón y fetales humanas. Mostrando cuerpos de inclusión citoplasmáticos en la línea celular PK-15, y en mayor cantidad en células GMK (21).

Al inocular embriones de pollo de 6 días por la cavidad alantoidea, 50% murieron a las 72 horas postinfección (26, 40); y se detectó actividad hemaglutinante en el fluido alantoideo (40). En otro experimento, al inocular con el virus LPM embriones de pollo, vía saco vitelino, éstos murieron a los 3 ó 4 días, pero no cuando se inocularon por la vía de la cavidad alantoidea o por saco amniótico. En este estudio no se detectó actividad hemaglutinante en los fluidos del embrión ni en las suspensiones de yema o saco amniótico en 7 pases consecutivos; después del 10º pase, el virus LPM se adaptó a crecer en el saco de la yema y en el saco amniótico y mostró títulos HA de 1:8 a 1:64 (21).

ESPECIES SUSCEPTIBLES.-

La única especie donde se ha confirmado la enfermedad natural es el cerdo (26, 27).

En 1985 Stephano y Gay, observaron signos clínicos al inocular experimentalmente ratones, estos consistieron en signos nerviosos, conjuntivitis, neumonía intersticial, y lograron recuperar el virus de encéfalo, pulmón, hígado y riñón (27).

Al infectar experimentalmente ratones con el virus LPM por vía intracerebral, se presentaron signos que derivaron del SNC y la muerte ocurrió entre los 3 y 5 días después de la inoculación; el virus LPM se pudo aislar de diferentes órganos, al inocular éstos en células PK-15; se menciona en este comunicado que el virus probó ser altamente infeccioso y letal para ratones, y para cerdos muy jóvenes, con un tropismo centrado hacia el SNC y el tracto respiratorio (6).

Por otra parte, en un experimento donde se inocularon 18 ratones de aproximadamente 6 semanas de edad, con 0.02 ml de virus LPM del pase XIII en células de cornete de bovino (BT), se presentó la muerte desde las 48 horas después de la inoculación, presentando postración con respiración abdominal, exudado nasal seroso escaso, arqueamiento del dorso, pelo hirsuto, caminar en círculos con la cabeza ladeada, pérdida del equilibrio, parálisis de los miembros anteriores y se enterraban entre el material de la cama antes de morir; al término de la observación (que fue de 8 días), quedaron 11 ratones vivos, los cuales aparentemente se recuperaron (Martínez L., 1986, comunicación personal).

En otra comunicación, se menciona la inoculación de ratones, en los cuales se reprodujeron los signos clínicos, con excepción de la opacidad de la córnea (39). Cuando se inocularon ratones adultos con una suspensión diluida 1:10 del cerebro original del cual se aisló el virus LPM, o con suspensión del 5° pase en células PK-15 con 10^4 dosis infectantes de cultivo de tejidos (DICT) 50/ml, vía intracerebral con 0.01 ml, todos los ratones mostraron temblor y excitación y murieron en 3 a 5 días después de la inoculación. En este experimento el virus LPM se aisló de cerebro, pulmón, hígado y bazo (21).

El conejo adulto es resistente a la infección intramuscular y no presenta signos de la enfermedad, sin embargo hay desarrollo de anticuerpos (26).

En un estudio donde se utilizaron 7 perros localizados en 3 granjas porcinas diferentes, en las cuales previamente se diagnosticó el síndrome del ojo azul -- (SOA), a todos los perros se les dio de comer carne de cerdos muertos con signos del SOA; y se vio que los 7 perros permanecieron asintomáticos durante un período de 30 días que fueron observados; en ninguno se determinó la presencia de anticuerpos contra el SOA mediante la prueba de IH utilizando un antígeno específico elaborado con el virus del SOA, aislado de casos de SOA. Según los autores, los estudios realizados indican que el SOA no afecta clínicamente a los perros,

y que la ausencia de anticuerpos indica que el virus del SOA no se replica en p^{er}ros (10).

Al parecer el hombre es refractario a la infección (38).

TRANSMISION EXPERIMENTAL.-

En 1983, Stephano y Gay (33) comunicaron la reproducción experimental de este síndrome, inoculando una camada de 7 lechones de 1 día de edad; 6 con líquido sobrenadante de un monoestrato de células PK-15 infectadas con encéfalo de lechones afectados por el SOA. Este espécimen contenía 4500 DICT 50%/ml, y con él se inocularon 2 lechones con 0.3 ml por vía intracerebral; con 0.5 ml 2 por vía intratraqueal; y a 2 con 0.5 ml por vía intranasal; el lechón restante fue inoculado con 0.5 ml, por vía intratraqueal, de una suspensión al 10% del encéfalo de un cerdo con "ojo azul". Quedando un lechón hermano como control sin inocular. - Los 8 animales fueron dejados con su madre hasta su muerte o finalización del experimento. Todos los animales inoculados y el control en contacto con éstos, mostraron signos clásicos de la enfermedad, pero en ninguno se observó opacidad de la córnea (33). En tanto que en otra investigación donde se inocularon cerdos de 3 semanas de edad, se menciona que al 9º día posterior a la inoculación se observó opacidad corneal poco severa (21). En los 7 lechones de un día de edad, los primeros signos clínicos se presentaron desde las 18 horas hasta los 19 días post inoculación. La mortalidad ocurrió entre los 3 y los 30 días postinoculación. -- Dos de los cerdos inoculados se recuperaron alcanzando peso normal hasta su sacrificio el día 30 postinoculación. Los principales cambios observados fueron: - enflaquecimiento, degeneración de la grasa cardiaca, neumonía discreta en lóbulos anteroventrales, pulmón no colapsado, leche en estómago, constipación en intestino grueso, congestión meníngea y vejiga pletórica. Las lesiones histológicas más importantes fueron meningoencefalitis, neumonía intersticial difusa, tonsilitis

e infiltración por células mononucleares en ángulo iridocorneal. En los estudios virológicos realizados, se consideró aislamiento positivo cuando en el cultivo - se observó ECP característico, con formación de sincitios, a las 72 horas en el 1º, 2º ó 3º pase, y el sobrenadante aglutinó eritrocitos de ovino. Lo cual se lo gró a partir de cerebro de todos los animales, excepto en uno de los inoculados por vía intranasal; también se recuperó el virus a partir de pulmón, tonsilas, - bazo, hígado, riñón, sangre, ganglios intestinales y corazón de algunos animales, incluyendo el control, en este último también se recuperó de cornete nasal, en - los demás esto no se intentó. No se intentó recuperar el virus a partir de todos los tejidos mencionados, de todos los lechones. Al hacer inmunofluorescencia del cerebro de todos los lechones, todos fueron positivos, excepto uno de los inocu- lados por vía intranasal, con el cual no se realizó esta prueba (33).

En otros estudios de transmisión experimental, Martínez et al. (1985 a, b) inocularon cerdos hiperinmunes a cólera porcino, utilizando el virus LPM. En el primero, inoculado por vía parenteral, observaron signos respiratorios severos, conjuntivitis y lagrimeo, con ligeros signos de incoordinación y temperatura má- xima de 40.4 C el día 16 postinoculación. En otro cerdo inoculado por vía oral, nasal y conjuntival; hubo conjuntivitis, lomo arqueado, diarrea y ligera respira- ción abdominal, con temperatura máxima de 40.1 C el día 16 postinoculación. Otro cerdo que fue puesto en contacto, mostró una semana después ligera congestión en mucosas oculares, dorso arqueado, ligera opacidad corneal en el ojo derecho, y - al 8º día mostró ligeros temblores al hacerle ruido. Estos cerdos eran de approxi- madamente 3 meses de edad (14, 15). Al inocular un cerdo normal, hubo ligero au- mento de temperatura al 4º día, con un máximo de 40 C, disminución del apetito a partir del 6º día, conjuntivitis pronunciada, inflamación periorbital, exudado - nasal; y a partir del 9º día ceguera parcial unilateral con ligera opacidad de - la córnea, cabeza torcida, incoordinación, posición de perro sentado, temblores,

caminaba en círculos, pedaleo, debilidad y dificultad para levantarse (14, 15).

En otro estudio (Moreno-López et al., 1986), se inocularon 2 cerdos de 3 meses de edad, uno por vía intravenosa, y el otro por vía oral e intranasal con 3 ml del 5° pase del virus LPM en células PK-15, el inóculo contenía 10^4 DICT 50/ml, manteniendo como control a un tercer cerdo de la misma edad en contacto con los inoculados. Los animales inoculados desarrollaron signos respiratorios al 3° día postinoculación y mostraron fiebre, conjuntivitis y signos nerviosos. En general, los signos de estos dos animales fueron poco severos. El animal no inoculado en contacto con los inoculados desarrolló únicamente ligeros signos respiratorios (21).

Tratando de conocer el efecto del virus en cerdas gestantes, Stephano y Gay (1984 a, c) informaron la reproducción experimental de la enfermedad en 2 cerdas gestantes con promedio de 9.5 lechones nacidos vivos. La primera, de 3° parto y 95 días de gestación, y la segunda de 5° parto, con 35 días de gestación. Ambas clínicamente sanas y sin títulos de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación contra el SOA antes de la inoculación. Se dejó a una tercera cerda de 35 días de gestación como control. Se inocularon con 3 cc por vía intratraqueal y 2 cc por vía intranasal, de líquido sobrenadante de cultivo celular del virus del SOA con título de $1 \times 10^{4.5}$. A las 24 horas postinoculación una cerda mostró anorexia -- que duró 48 horas y estreñimiento, la otra sólo moderado estreñimiento, después fueron asintomáticas. La cerda de 95 días de gestación parió 19 días postinoculación 10 lechones vivos y 2 muertos, ninguno de los vivos mostró signos de la enfermedad, el día del parto se determinaron en el calostro títulos mayores a 1:80 unidades inhibitoras de la hemaglutinación y en el suero de 1:270. Los 10 lechones se dejaron a que mamaran calostro y 48 horas después fueron inoculados por diferentes vías sin observarse signos clínicos. La otra cerda parió 75 días después de la inoculación 4 lechones vivos, 1 muerto y 2 momificados; esta cerda de

sarrolló títulos serológicos de 1:80, su camada no mostró signos clínicos de la enfermedad, ni infectó a cerdos serológicamente negativos en contacto. La cerda control parió 80 días después de iniciado el experimento, 8 lechones clínicamente sanos, a los cuales se les permitió mamar, y a las 12 horas de nacidos se inocularon con virus del SOA; enfermaron y murieron con signos de la enfermedad, recuperando más tarde el virus de sus tejidos; esta cerda permaneció serológicamente negativa (25, 34).

DIFUSION.-

La principal vía de entrada de la enfermedad a una granja, es mediante la introducción de animales infectados a piaras libres de anticuerpos. Además de -- que se ha sugerido la diseminación por personas y/o vehículos (26, 27). Se menciona que la utilización de vacunas elaboradas a partir de suspensiones de encéfalos de cerdos muertos procedentes de zonas afectadas ha contribuido a la diseminación de la enfermedad (36). Al parecer, el stress causado por sistemas de -- producción muy intensivos, posiblemente favorece la multiplicación del virus del SOA (37). Se sugiere que en condiciones de campo, cuando hay tensión y bajan las defensas del animal el virus del SOA puede establecerse y causar enfermedad con mortalidad en cerdos de hasta 45 kg de peso (39).

Se desconoce por cuanto tiempo persiste el virus en una pira infectada, -- así como por cuanto tiempo eliminan virus los animales enfermos. Si bien, se observan casos todo el año, el número mayor se presenta entre marzo y julio (26).

CURSO.-

Al analizar un brote (al parecer combinado) de enfermedad del edema y SOA, en una granja de engorda, se observó que se afectaban únicamente cerdos de 15 a 40 kg de peso (23 kg en promedio). Se observaron 2 patrones clínico-patológicos

uno agudo en animales en buen estado de carnes, donde los signos nerviosos progresan rápidamente, muriendo el mismo día; el otro, de curso más largo, al inicio tienen buen estado de carnes pero van perdiendo peso, el 20% de los afectados desarrolló opacidad de la córnea, estos animales murieron entre los 3 y 4 días después del primer signo (43).

El cuarentenar cerdos en áreas afectadas de la granja ha ocasionado un aumento en el número de semanas que dura el brote (28).

En granjas de ciclo completo el brote agudo con mortalidad en lechones puede durar de 2 a 9 semanas, dependiendo del número de cerdos y del número de marranas que paren durante el brote (26).

SIGNOS CLINICOS.-

Los signos clínicos al parecer dependen principalmente de la edad:

a) En lechones de 2 a 15 días de edad: son los más susceptibles, los signos se presentan súbitamente; se ven postrados, deprimidos o con problemas nerviosos. Los primeros signos son fiebre, eritema cutáneo, pelo erizado, lomo arqueado, acompañado de constipación o en ocasiones de diarrea. Posteriormente hay signos nerviosos progresivos, como incoordinación, debilidad, rigidez principalmente de los miembros posteriores, temblores musculares, con posturas y marchas anormales. Algunos con hipersensibilidad. Más tarde hay postración, letargia, con algunos movimientos involuntarios, mirada perdida, pupila dilatada, ceguera, en ocasiones nistagmus, con muerte entre las 30 y 48 horas después de la postración. En los primeros casos el curso es de 48 horas, pero en casos posteriores es de 3 a 5 días. Simultáneamente, algunos animales presentan conjuntivitis, ojos hinchados, lagrimeo, párpados pegados, y en 1 a 10% de los afectados opacidad de la córnea uni o bilateral. Con frecuencia sólo se observa la opacidad corneal sin signos nerviosos en lechones (26).

b) En cerdos de más de 30 días: de acuerdo con Stephano y Gay (1985 a, b), los signos nerviosos son raros y pocos mueren por la enfermedad (26). Aunque en otra comunicación, se menciona que los cerdos destetados o de más de 30 días sólo ocasionalmente mostraban signos nerviosos o morían, y el único cambio observado fue opacidad de la córnea en el 1 a 4% de los cerdos (39). Cuando llegan a presentarse los signos nerviosos hay anorexia, depresión, incoordinación, marcha en círculo y movimientos pendulares de la cabeza, entre otros. Hay conjuntivitis y opacidad de la córnea. Se ha sugerido retraso en el crecimiento y baja en el consumo de alimento (26).

c) Los animales reproductores y las cerdas en maternidad: ocasionalmente desarrollan opacidad corneal, principalmente las primerizas. Las cerdas con camadas afectadas están asintomáticas, pero con frecuencia manifiestan anorexia 1 ó 2 -- días antes de los signos clínicos en los lechones. También pueden presentar opacidad de la córnea. Hay falla en el ciclo reproductivo (26). Al analizar los diferentes parámetros productivos en las granjas afectadas se observó: incremento en el número de hembras repetidoras, lo que ocasionó una caída en 15 a 20% de la fertilidad de la piara. Este efecto persiste hasta por 6 a 8 meses. Hay un incremento en el número de lechones nacidos muertos (2 al 24%) y fetos momificados -- (1 al 5%). Se afectan entre el 20 y 65% de las camadas nacidas durante el brote, en las cuales la morbilidad es de 20 al 50%; y en estos lechones afectados, la mortalidad va del 87 al 99%. Este efecto en la maternidad dura entre 2 y 9 semanas (26, 39).

Por otra parte, cuando se analizó un brote sucedido en una granja comercial de 760 vientres, ubicada en el municipio de Tlajomulco de Zúñiga, Jal., se hicieron las siguientes observaciones: elevación crítica de los mortinatos, que del 4%, se elevó a 32% por el brote, 800% de incremento; la morbilidad en lactantes de 4 a 10 días de edad fue del 56%, muriendo el 100% de los que enfermaban. Los

destetados de 8 a 15 kg desarrollaron ojo azul, con pocas bajas. Un 15% de los cerdos de engorda y reproductores presentó ojo azul, predominantemente unilateral. Las reproductoras que se cubrían durante las semanas posteriores al brote, presentaban frecuentemente repeticiones de calores en un 20%, atrasadas hasta -- con 45 a 50 días después de la monta inicial, y otro 25% de las reproductoras no salían cubiertas, entraban en una etapa de anestro prolongado hasta por 4 a 5 meses. Este comportamiento se fue normalizando lentamente (11).

d) En granjas de engorda: la morbilidad va de 1 a 20%, con mortalidad menor a 1% (26); pero también se han presentado brotes de encefalitis (de etiología múltiple) hasta con 30% de mortalidad (30). Martínez y colaboradores, en 1985 mencionan un brote con signos encefalíticos con 15 a 20% de mortalidad, en cerdos de engorda (14, 15).

Con todo lo anterior se ha tratado de dar una imagen de lo que ha sucedido en el campo con esta enfermedad. Al parecer, inicialmente se enfermaban primordialmente los lechones de 4 a 10 días de edad (41), y posteriormente cada vez -- fue más frecuente que se enfermaran los animales de engorda, con mortalidad y signos nerviosos manifiestos (14, 15, 43). Aunque evidentemente, esto no es atribuible a una sola etiología (30, 37, 43).

PATOGENIA.-

Se menciona que hay evidencias de que la ruta natural de infección es la nasofaringe. El sitio inicial de replicación parece ser que es en la mucosa de cornetes y en tonsilas. Sin embargo, cuando el virus se inocula intratraquealmente, el periodo de incubación se acorta. Del sitio inicial de replicación pasa al sistema nervioso central y pulmón, desconociéndose la forma en que llega al encéfalo (26).

La opacidad corneal, al parecer es debida a una respuesta inmunológica, pro

bable hipersensibilidad tipo III (26).

La viremia es parte importante en la diseminación del virus en el animal, au que no se sabe cuando ocurre ésto, aparentemente debido a ella el virus llega a -- útero, causando muerte embrionaria con retorno al estro en el primer tercio de la gestación; y causando muerte fetal y momificaciones en gestaciones más avanzadas - (26).

Los autores de un experimento en el cual se inocularon 2 cerdas gestantes con el virus del SOA, mencionan que los hallazgos observados indican que el efecto reproductivo dependerá de la etapa de la gestación en que ocurre la infección. Sugiriendo que cuando la infección ocurre al inicio de la gestación se produce muerte embrional, reabsorción y retorno al estro; cuando ocurre a mediados de la gesta---ción se produce muerte fetal con momificación, y al final ocasiona mortinatos o infección de lechones después del nacimiento. Cuando la cerda se infecta con tiempo suficiente para desarrollar anticuerpos, confiere inmunidad pasiva a los lechones en el calostro (34). Esto último ha sido comprobado por Martínez y colaboradores, 1986 a, b; 1987 a (16, 17, 18). Al parecer el aborto no ha sido caracterfístico de la enfermedad (34).

LESIONES A LA NECROPSIA.-

Al realizar 13 necropsias de animales clínicamente enfermos, en un brote (al parecer combinado) de enfermedad del edema y síndrome del ojo azul, se observó en orden de frecuencia: congestión de encéfalo (10), bronconeumonía (8), opacidad de la córnea (7), aumento de tamaño de ganglios (6), hemorragias de serosas y riñón - (6), ascitis (5), gastritis (5), aumento de líquido céfalorraquídeo (5), neumonía fibrinosa (4), manchas de leche (4), edema intestinal (4), hidropericardio e hidro torax (3), pericarditis (3), edema gástrico y laringeo (2), peritonitis (2), nefri tis (2), y otras lesiones menos frecuentes (43).

Aunque las lesiones macroscópicas más frecuentemente observadas son neumonía en los bordes ventrales de los lóbulos craneales (1-5%) y congestión meníngea. En lechones postrados se ve atrofia serosa de la grasa coronaria, moderada distensión gástrica con leche, distensión de vejiga por acumulo de orina, y fluido en cavidad peritoneal, con finas bandas de fibrina. Opacidad y edema de la córnea uni o bilateral con grosor de hasta 3 mm en 1 a 10% de los cerdos, humor acuoso escaso; generalmente estos animales no mueren por la enfermedad. En ocasiones hay formación de una vesícula de 2 a 3 mm o úlcera en la capa externa de la córnea, así como con menor frecuencia queratocono (26).

HISTOPATOLOGIA.-

En una comunicación relativa a las lesiones histológicas del SNC, producidas por un virus hemaglutinante en lechones infectados en condiciones naturales, se estableció que había: una meningoencefalitis no supurativa en los 30 cerebros examinados; la sustancia gris fue la principalmente afectada, pero cada animal presentó un diferente grado de severidad y de extensión de la lesión en el cerebro. Hubo gliosis focal, infiltración perivascular de linfocitos, células plasmáticas y células reticulares; necrosis, neuronofagia, meningitis y coroiditis. Dentro del cerebro las áreas más afectadas fueron: el tálamo, cerebro medio y corteza cerebral; no obstante que las lesiones fueron vistas a través de todo el cerebro. Las lesiones en el SNC correspondieron a aquellas producidas por un virus neurotrópico (22).

En lechones, los principales cambios histológicos se localizan en el SNC, -- existiendo variaciones en cuanto a la severidad y extensión de la lesión (26). En encéfalo se ha observado una encefalitis no supurativa, caracterizada por gliosis focal y difusa, infiltración leucocitaria perivascular (39), no se observan cuerpos de inclusión in vivo (26); pero in vitro, se han observado en células GMK, y en menor cantidad en células PK-15 (21). En pulmón se da el cambio más frecuente,

consiste en zonas localizadas y diseminadas de neumonía intersticial, en donde el septo alveolar se ve engrosado por células mononucleares (26, 39). Y en ojo, en -- los cerdos con opacidad de la córnea, hay uveítis anterior (39), el edema corneal es variable (26). Hay infiltración de células inflamatorias (39) (mononucleares y neutrófilos) (26) en ángulo iridocorneal, unión esclero corneal, y endotelio corneal (39); en la capa interna de la córnea puede haber una capa de macrófagos y neutrófilos, así como aumento de vascularización (26). Muchos animales tienen tonsilitis moderada con descamación del epitelio y células inflamatorias en criptas (26). En otros órganos los cambios no son significativos (26, 39).

Los cambios histológicos más importantes que se observaron en encéfalo de 13 cerdos de engorda clínicamente enfermos, en un brote (al parecer combinado) de enfermedad del edema y síndrome del ojo azul, fueron: degeneración de las paredes de los vasos sanguíneos y malacia simétrica que afectó tálamo, cerebro medio, cerebelo y médula (próxima al acueducto), en 7 casos se observó, además de lo anterior, encefalitis no supurativa, y en 2 encefalitis supurativa (43).

Por otra parte, en un estudio acerca del SOA, se realizó la necropsia a 15 -- cerdos de engorda que mostraron signos nerviosos, de los cuales 10 tenían opacidad de la córnea. Los cerdos provienen de 7 granjas ubicadas en La Piedad, Mich. y sus alrededores. En un animal con opacidad de la córnea se diagnosticó pseudorrabia -- por inmunofluorescencia realizada en tonsila y encéfalo; y mostró lesiones histopatológicas sugestivas de la misma. Pero además, mostró títulos inhibidores de la -- hemaglutinación contra el virus del SOA mayor a 1:128, pero fue negativo al SOA -- por inmunofluorescencia. En esta comunicación se concluye que el animal sufrió SOA previamente y desarrolló opacidad de la córnea; posteriormente padeció Aujeszky. -- No es fácil establecer el papel del virus del SOA y el del virus de la enfermedad de Aujeszky en forma simultánea, en un cerdo con signos nerviosos (37).

INMUNIDAD.-

En un estudio epidemiológico en el que se utilizó la inhibición de la hemaglutinación y la seroneutralización, se observó que en la granja A, de ciclo completo, los anticuerpos persistieron en el pie de cría hasta por más de 15 meses, en el -- 56% de los cerdos, y en la granja B hasta por más de 11 meses en el 88% de la pira. Al introducir a la granja A 54 cerdos sin anticuerpos, 6 meses después del brote, ningún animal mostró signos y ninguno desarrolló anticuerpos seroneutralizantes; aunque en 4 hubo anticuerpos IH. Al introducir a la granja B 30 cerdos 11 meses después del brote, tampoco hubo anticuerpos ni signos. Se concluye en este trabajo que en granjas cerradas esta enfermedad se autolimita, y los anticuerpos persisten en el pie de cría hasta por 15 meses después del brote (24, 31, 32).

A mediados del año 1985, en una granja de ciclo completo cercana a La Piedad, Mich., Martínez *et al.* (1986 a, b; 1987 a) hicieron un muestreo serológico al azar, para determinar la curva de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación en cerdos de diferentes edades, obteniéndose los resultados mostrados en el Cuadro 1.

Cuadro 1.- TITULOS DE ANTICUERPOS INHIBIDORES DE LA HEMAGLUTINACION (IH)
CONTRA EL PARAMIXOVIRUS DE LA PIEDAD, MICHOACAN (LPM) EN CERDOS
DE DIFERENTES EDADES.

TAMARO DE LA MUESTRA	EDAD	TITULOS IH PROMEDIO	RANGO DEL TITULO IH
10	CERDAS EN LACTACION*	1:236	1:20 - 1:640
31	DE 3 A 11 DIAS ⁺	1:339	1:40 - 1:1260
9	DE 2 A 3 MESES	1:11	1:5 - 1:20
20	DE 3 A 4 MESES	1:32	1:5 - 1:80
9	DE 4 A 5 MESES	1:44	1:20 - 1:160
10	DE 5 A 6 MESES	1:122	1:20 - 1:640

* 3 CON OPACIDAD DE LA CORNEA UNILATERAL
+ 21 HIJOS DE LAS CERDAS EN LACTACION

Martínez *et al.* (1986 a, b; 1987 a)

De los resultados mostrados en el Cuadro 1, se dedujo que los títulos máximos corresponden a las madres y los lactantes, descendiendo al valor mínimo a los 2 a 3 meses de edad, y suben conforme aumenta la edad (16, 17, 18).

DIAGNOSTICO.-

Para el diagnóstico preciso se requiere el aislamiento del virus a partir de encéfalo principalmente, de tonsilas y pulmón (26); y de la identificación del virus mediante pruebas serológicas, anticuerpos fluorescentes, virus neutralización, etc. Las pruebas serológicas de inhibición de la hemaglutinación y/o seroneutralización, detectando títulos ascendentes de anticuerpos (26), también son útiles para integrar el diagnóstico. Cabe mencionar que el virus se aísla de encéfalo con mayor abundancia que de cualquier otro tejido (26).

DIAGNOSTICO DIFERENCIAL.-

Se debe diferenciar de la enfermedad de Aujeszky, la cual produce cuerpos de inclusión intranucleares y aborto en forma característica, y es producida por un virus herpes DNA (26), que al ser inoculado en conejos por vía subcutánea, produce escozor, al grado de que los conejos se producen laceración y mueren en 2 a 4 días (4). De encefalitis por virus hemaglutinante, la cual sólo afecta a lechones con 2 cuadros clínicos; uno encefálico y otro digestivo con vómito y desnutrición; sin afectar la reproducción; hay ceguera, pero sin opacidad de la córnea. Además de -- que este virus no hemaglutina eritrocitos de caballo, y de que el sincitio sólo lo forma en riñón primario de cerdo; no tiene neuraminidasa, y no hay elución (26).

Este síndrome se puede confundir, de acuerdo a sus características, con gastroenteritis transmisible (GET) por mortalidad súbita que causa en lechones (26); sin embargo esta enfermedad es de tipo digestivo. SMEDI y parvovirus que también pueden causar problemas reproductivos en las hembras. Influenza por los problemas respira

torios; deficiencia de vitamina A, por la opacidad de la córnea; y cólera porcino, tremor congénito, enterovirus y enfermedad del edema entre otros, por los signos nerviosos en lechones (26).

PREVENCION.-

Para prevenir la enfermedad se deben seguir medidas sanitarias que reduzcan al mínimo el riesgo de adquirir la enfermedad (26). Se sugiere que en condiciones de campo, cuando hay tensión y bajan las defensas del animal, el virus del SOA puede establecerse y causar enfermedad con mortalidad en cerdos de hasta 45 kg de peso (39).

TRATAMIENTO Y CONTROL.-

Al presentarse un brote, se debe medicar contra infecciones bacterianas concurrentes para reducir la mortalidad, y un posible retraso en el crecimiento siendo esto importante cuando se observa diarrea, tos y/o aborto (26).

DISTRIBUCION.-

De acuerdo con Stephano y Gay (1986 a), hasta septiembre de 1985, la enfermedad se había diagnosticado en 12 estados de la República Mexicana. En 1980, en los Estados de Michoacán, Jalisco y Guanajuato. En 1982, en el Estado de México. En 1983, en el Distrito Federal, Nuevo León, Hidalgo, Tlaxcala, Yucatán, Tabasco y Querétaro. Y en 1984, en Tamaulipas (39). A este respecto, en diciembre de 1986, se aclaró que los casos de Yucatán y Tabasco, fueron de rastro, y que aparentemente provienen del Bajío (29). Se afirma que en todos los estados donde se ha reconocido la enfermedad, se ha aislado el mismo virus, y los estudios serológicos y de inmunofluorescencia específica contra el virus, han resultado positivos (28). Desde principios de 1986 los brotes se han multiplicado, -

observándose epizootias en zonas "limpias" de Guanajuato, Jalisco y Michoacán, debido aparentemente a la movilización de cerdos pepenados (38). La Piedad, --- Mich., continúa siendo el principal foco de infección; dadas las características señaladas y los estudios realizados, esta enfermedad tiene un efecto importante en la porcicultura nacional (39).

EFEECTO ECONOMICO.-

Para concluir esta presentación, se hace mención de un análisis económico de un brote de campo (al parecer combinado) de enfermedad del edema y síndrome del ojo azul, el cual arrojó los siguientes resultados: de una población susceptible de 6,000 cerdos (de 15 a 40 kg), se afectaron 3,000 (50%), de estos murieron 2,034 (67.8%); con un costo promedio por animal de \$ 7,000.00, lo que da un total de \$14'238,000.00. Los animales que no murieron (966) tuvieron un retraso promedio de 45 días para llegar al peso de venta (105 kg). Se calculó un consumo diario de 2.5 kg/dfa/cerdo, a razón de \$32.00 el kilo de alimento; lo cual da un total de 3'477,600.00. Se mencionan pérdidas globales (por muertes y retraso del crecimiento) en el brote estudiado, que ascendieron a \$17'715,600.00 (43). Se debe mencionar que los costos anotados son de aproximadamente julio de 1984, cuando un dolar EUA costaba \$187.09.

II.- CARACTERISTICAS DE LOS PARAMIXOVIRUS

CLASIFICACION Y NOMENCLATURA*.-

Familia Paramyxoviridae.

Paramyxo: del griego Para, "al lado de" y Myxo, "moco" (relacionado con la actividad de hemoaglutinina y neuraminidasa) (19).

Principales características.- Viriones pleomorfos, usualmente esféricos, de 150 nm o más de diámetro, pero pueden ocurrir formas filamentosas de varios micrómetros. Envoltura lípida de doble capa con proyecciones en la superficie y nucleocápside helicoidal firmemente estructurada. Genoma no segmentado con RNA lineal de banda única, y peso molecular de $5-8 \times 10^6$. La polimerasa del virión de RNA transcribe RNA viral en el mRNA complementario, que puede encontrarse -- también en el virión. Ocurren interacciones genéticas rara vez, pero en realidad casi nunca. El virus es antigénicamente estable (20).

Género Paramyxovirus.

Principales características.- Todos los miembros del género poseen una -- neuraminidasa, en contraste con los miembros de los otros dos géneros (19). Los viriones contienen hemaglutinina (20).

Especie tipo	Virus de la enfermedad de Newcastle	aviario
Otros miembros	Paramyxovirus del pinzón	aviario
(19)	Paperas	humano
	Nariva	murino
	Parainfluenza 1	humano, murino
	Parainfluenza 2	humano

* De acuerdo con el Comité Internacional Sobre Taxonomía de los Virus, 1976 y 1982.

Parainfluenza 3	humano, bovino, ovino
Parainfluenza 4	humano
Parainfluenza 5	aviario, simio, canino
Parainfluenza del pavo/ontario	aviario
Paramixovirus del perico	aviario
Yucaipa	aviario

Género Morbillivirus.

Morbilli: plural del latín morbillus, diminutivo de morbis, "enfermedad", de aquí "sarampión" (19);
morbilli: sarampión (8).

Principales características.- La envoltura contiene hemaglutinina (20). Todos los miembros carecen de la neuraminidasa (19, 20) que tienen todos los Paramyxovirus y difieren del género Pneumovirus en el tamaño de la nucleocápside y en otras características estructurales (19). Todos los miembros producen tanto cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos como intranucleares, que contienen ribonucleoproteína viral. Los miembros del grupo están claramente relacionados antigénicamente (19).

Especie tipo	Virus del sarampión	humano
Otros miembros	Moquillo canino	canino
(19)	Peste de los pequeños rumiantes	ovino
	Peste bovina	bovino

Género Pneumovirus

Pneumo: del griego pneuma, "respiración" (19).

Principales características.- El virión no contiene hemaglutinina ni neuraminidasa (20). Difiere de los géneros Paramyxovirus y Morbillivirus en el tamaño de la nucleocápside y en otras características estructurales (19).

Especie tipo Virus respiratorio sincitial humano

Otros miembros Respiratorio sincitial bovino

(19)

Neumonía del ratón

Inicialmente dentro de los Paramyxovirus estaban el de la parotiditis, el de la enfermedad de Newcastle y los virus parainfluenza (1-4) (9); y con este grupo se clasificaron en un principio, virus que ahora están dentro de los géneros Morbillivirus (sarampión) y Pneumovirus (virus respiratorio sincitial) (9). Estos se colocaron tentativamente en el grupo Paramyxovirus basándose en las semejanzas morfológicas del virión (7, 9), pero ninguno de estos virus tiene neuraminidasa, ni ninguna relación antigénica con los otros paramyxovirus (7, 9).

Toman su nombre de la semejanza morfológica con los Myxovirus, con los que fueron originalmente clasificados. Sin embargo, ahora se reconoce que los dos grupos difieren en varias características importantes, que tienen que ver particularmente con la naturaleza del ácido nucleico y con su replicación (9).

Siendo los Paramyxovirus más grandes que los Myxovirus y más pleomórficos (9), los viriones de ambos, usualmente son esféricos, pero también se han visto formas filamentosas (20). Los Paramyxovirus miden de 100 a 300 nm de diámetro, con filamentos ocasionales y con partículas gigantes hasta de 800 nm, claramente visibles con el microscopio común (9). Están rodeados con una envoltura floja (9) que puede estar laxamente adaptada a la nucleocápside, debiendo hacer notar que es inmunógena y necesaria para la infectividad (20); es de naturaleza lipoprotéica, derivada de las células, es extremadamente frágil, dejando al virión vulnerable a la destrucción por almacenaje, congelamiento y descongelamiento, y a su manejo en las preparaciones para microscopio electrónico (9). De acuerdo con esto, las partículas aparecen con frecuencia en las microfotografías electrónicas, distorsionadas y es difícil hacer la demostración de su nucleocápside interna (9). -

La cual consta de un gran número de capsómeros proteicos unidos a la molécula de RNA viral de forma helicoidal (9). Cuando se hace un cuidadoso aislamiento del virus, purificado por disociación de la envoltura viral con solvente de lípidos, o a partir de las células infectadas, provocando lisis con agua, la nucleocápside puede recuperarse intacta (9). El virión contiene RNA de una sola banda que mide aproximadamente 17-18 nm de ancho (7), y su longitud es mucho más grande que la de los Myxovirus, se presenta como una sola banda (9, 20) de carga negativa (20), con peso molecular de 7 millones de daltons (9).

La partícula viral intacta tiene una envoltura externa bien definida, cubierta con proyecciones cortas (7). En la envoltura de todos los Paramyxovirus se encuentra una hemaglutinina, una neuraminidasa en algunos y una hemolisina en otros (9). En el caso de influenza y algunos Paramyxovirus, la hemaglutinina de la superficie, que es una glucoproteína, se fija al glóbulo rojo que posee receptores complementarios (20). El virus produce elución sobre el glóbulo rojo a 37 C, debido a la destrucción de ácido neuráminico en sus receptores por la neuraminidasa del virión, pero tal cosa no ocurre a 4 C por merma de la actividad enzimática -- (20). El virus eluido puede aglutinar un glóbulo rojo fresco, pero éste una vez eluido ya no puede ser aglutinado por la misma especie de virus, debido a la pérdida de sus receptores (20). Sin embargo, el glóbulo rojo eluido puede ser aglutinado por otro virus de estos dos grupos (20). Sobre esta base, los virus de la influenza y algunos Paramyxovirus han sido dispuestos o incluidos en una serie -- llamada el "gradiente de receptor" (20).

En general, el medio de suspensión, gama de pH (5 a 9), y temperatura, no -- son factores críticos, aunque cada virus, en forma característica, propicia la fijación a ciertos glóbulos rojos bajo condiciones favorables (20). La hemaglutinación de algunos virus requiere un pH particular (20).

COMPOSICION ANTIGENICA.-

No existe un antígeno común entre todos los Paramyxovirus. Aunque el de la - parotiditis (que afecta a la especie humana), el virus de la enfermedad de Newcastle y 4 tipos de parainfluenza están todos relacionados serológicamente, por lo - menos con algún otro miembro del grupo. El virus del sarampión comparte determi-- nantes antigénicas con los virus del moquillo de los perros y el de la peste bovi-- na. Mientras que el virus respiratorio sincitial es muy diferente (9).

HOSPEDADORES SUSCEPTIBLES Y CRECIMIENTO EN CULTIVOS CELULARES.-

El grupo de los Paramyxovirus contiene un número de distintos virus que cau-- san enfermedades en diversas especies de mamíferos y aves (7). Algunos causan in-- fecciones localizadas en el tracto respiratorio, y otros producen enfermedades ge-- neralizadas (7). Los Paramyxovirus de mayor importancia veterinaria hasta el mo-- mento, son el parainfluenza 3 de los bovinos, el de la enfermedad de Newcastle en las aves, moquillo canino, peste bovina y peste de los pequeños rumiantes (7). To dos los Paramyxovirus en general (excepto el virus respiratorio sincitial), pue-- den crecer en huevos embrionados sólo después de su adaptación (9). Sin embargo, se manejan más fácilmente en cultivos celulares (9). Entre las células que más se ocupan para el aislamiento e identificación de Paramyxovirus de bovinos se encuen-- tran las de origen renal: células primarias de riñón bovino embrionario (BEK), cé-- lulas de riñón bovino (BK), suino (SK), felino (FK), embrión de pollo (CEK), y mo-- no (MK); o líneas celulares como MDBK y células de traquea embrionaria bovina --- (EBTr) (7). Los Paramyxovirus no causan extensa destrucción celular, pero produ-- cen la formación de sincitios por la acción de una enzima en las membranas celu-- lares, posiblemente una fosfolipasa contenida en la envoltura viral (9). En el ci-- toplasma y en ocasiones en el núcleo de estas células gigantes se desarrollan in-- clusiones acidófilas múltiples (9). La hemaglutinina recién sintetizada, incorpo--

rada en la membrana de la célula infectada, permite que la hemadsorción sea empleada como una ayuda diagnóstica (9).

MULTIPLICACION VIRAL.-

Los estudios del ciclo de multiplicación de los Paramyxovirus, usando el virus de la enfermedad de Newcastle (VEN) como modelo, han revelado una diferencia interesante del patrón visto con los ribovirus más pequeños (9). La glucoproteína de la envoltura o cubierta, participa en la fijación de los virus denominados envueltos (20). Las espigas de hemaglutinina de Ortomyxovirus y Paramyxovirus son estructuras específicas de receptor (20). La fusión (mecanismo de penetración) ocurre probablemente más a menudo en los virus provistos de envoltura (20). Aquí, la fusión de la envoltura con la membrana plasmática de las células tiene lugar antes de la liberación de la nucleocápside en el citoplasma (20). El virus RNA con genoma de estructuración en tira negativa es portador de transcriptasa asociada al virión para la transcripción de su genoma RNA a mRNA (20). Los Paramyxovirus transportan transcriptasa asociada al virión, y su genoma con disposición de banda negativa carece de función mensajera (20). Por lo tanto, su RNA viral es primero transcrito por la transcriptasa asociada al virión a RNA complementario (RNAc), el cual funciona como mRNA y es reconocido por el ribosoma para su transporte (20). La mayor parte de las moléculas de RNA recién sintetizadas, asociadas con polirribosomas, parecen ser filamentos "minus" complementarios en la composición de sus bases a la del RNA viral progenitor (9). Se deduce que dicho RNA, es mRNA trasladado en proteína viral (9). De modo que los segmentos correspondientes del RNA progenitor van a codificarse "sin sentido" (9). El ácido nucleico de este tipo de virus es una molécula, en la cual el RNA complementario (cRNA) monocistrónico de corta longitud deriva ya por transcripción directa o por desdoblamiento del cRNA en toda su extensión (20). La traducción de mRNA tie

ne lugar en el citoplasma hacia los ribosomas (20). En este tipo de virus RNA, - los mRNAs monocistrónicos son traducidos en polipéptidos separados (20).

La réplica de los Paramyxovirus no está impedida por la actinomicina D, ni por el pretratamiento de las células con dosis muy altas de luz ultravioleta. -- Además, la hemaglutinina se sintetiza en forma normal en fragmentos celulares -- anucleados, indicando que estos virus, a diferencia del de influenza, no necesitan información codificada por las células, ni desde luego, del núcleo mismo (9).

La morfogénesis de las partículas de los Paramyxovirus se comprende ahora, como resultado de algunos estudios con microfotografía electrónica. Las nucleocápsides se alínean contra la membrana plasmática y en estas regiones se hacen evidentes las características espículas de la hemaglutinina viral. Una nucleocápside (o a veces más) se incorpora a cada partícula viral al tiempo que aparecen en la superficie celular. Aunque los lípidos característicos de la membrana celular, están representados en la envoltura del VEN, las proteínas de la membrana han sido reemplazadas por la hemaglutinina y la neuraminidasa virales (9).

La reunión y maduración de los virus de RNA ocurre en el citoplasma. La membrana citoplásmica, alterada por la presencia de material específico de virus, - desempeña un papel importante en la reunión y maduración de los virus provistos de envoltura durante el proceso de gemación (20). Algunos virus RNA necesitan -- transcriptasa asociada al virión para su multiplicación, y de aquí que el ácido nucleico extraído, el cual carece de transcriptasa, no sea infeccioso (20). Los virus de RNA con envoltura, maduran y son liberados por el proceso de gemación, en la mayor parte de los casos brota la yema desde la membrana citoplásmica (20).

MEZCLA FENOTÍPICA.-

Después de una infección mixta, ciertos descendientes virales llevan sus respectivos genotipos paternos, pero adquieren caracteres fenotípicos de ambos prog-

nitores. No se trata de un cambio genético estable, debido a que por multiplicación reaparecen los caracteres fenotípicos respectivos del genotipo. Este fenómeno no es más frecuente en los virus provistos de envoltura (20).

PATOGENIA.-

El aparato respiratorio es una importante puerta de entrada para los virus respiratorios, tales como Ortomyxo- y Paramyxovirus. Casi todos estos agentes -- permanecen localizados en las vías respiratorias altas o bajas, pero algunos -- también se diseminan (20).

En términos generales, la diseminación viral generalizada se produce casi -- siempre por vía hematogena. Este tipo de infecciones ocurre de la siguiente manera: 1) el virus se multiplica en el sitio de entrada y en los ganglios linfáticos regionales; 2) se produce viremia primaria debido a la diseminación de los -- virus de la descendencia a otros órganos por vía sanguínea y linfocitos, en los cuales también se multiplican los virus; y 3) los virus alcanzan los órganos --- blanco por viremia secundaria y se multiplican extensamente, causando daño celular, lesiones y signos clínicos. Los órganos blanco incluyen piel, sistema nervioso central, hígado, corazón y algunas glándulas (20). Desafortunadamente en el -- caso del Paramyxovirus porcino LPM no se tienen datos precisos al respecto.

Muchos virus producen con frecuencia infecciones subclínicas, asintomáticas. Algunos virus virulentos pueden causar infecciones no aparentes, debiendo no olvidar que el término infección no es sinónimo de enfermedad (signos clínicos). -- Las infecciones no aparentes son importantes desde el punto de vista epidemiológico, ya que actúan como fuente no reconocida de diseminación de virus y pueden conferir inmunidad. Por otra parte, son identificados a menudo por estudios serológicos. Pueden hallarse implicados varios factores en estas infecciones: 1) naturaleza del virus; los virus moderadamente virulentos o atenuados (vacunas vi--

vas) causan infecciones no aparentes; 2) el estado inmune del huésped, induce -- respuesta de anticuerpos, e interferencia viral; y 3) incapacidad del virus para llegar al órgano blanco (20).

Las infecciones virales durante la preñez pueden causar muerte del feto, o todavía más importante, defectos congénitos. El virus es al parecer transferido al feto cuando existe viremia en la madre. Puede ocurrir infección en cualquier etapa del desarrollo del huevo hasta el nacimiento, y no rara vez figura como -- rasgo importante de muchas de estas infecciones cierto grado de deficiencia en -- cuanto a reproducción. La etapa de gestación en el momento de la infección, la -- capacidad del virus para ser transmitido al feto y para causar daño fetal son al parecer factores importantes en la producción de anomalías fetales (20).

Las infecciones por virus y otros invasores bacterianos secundarios pueden producir efectos sinérgicos en animales y causar secuelas más graves. La infec-- ción viral de las vías respiratorias con frecuencia facilita la invasión del sis-- tema por bacterias secundarias (20).

Los virus respiratorios suelen penetrar por inhalación, y también pueden in-- vadir por esta vía, algunos virus que causan infección generalizada (20), como -- el virus del cólera porcino y el de la peste porcina africana (Correa G., comuni-- cación personal). Los virus respiratorios son difundidos en la secreción nasal y expulsados por la tos y el estornudo (20).

INHIBIDORES DE LA ENTRADA VIRAL.-

a) AMANTADINA Y DERIVADOS.- Impiden la infección producida por algunos Orto myxovirus, Paramyxovirus y Togavirus, en cultivos celulares. Al parecer impiden la penetración del virus en la célula huésped o bloquea su escape hacia la misma. Pueden también actuar contra la transcriptasa viral (20).

b) BENCIMIDAZOLE SUBSTITUIDO Y GUANIDINA.- Inhiben la multiplicación de muchos Enterovirus in vitro, siendo su acción similar pero no idéntica; algunos virus pueden inhibirse por una droga, pero no por la otra. Interfieren con la síntesis de RNA viral de banda única sin afectar la síntesis de RNA celular. La guanidina interactúa al parecer con una proteína estructural que toma parte en la síntesis de RNA (20).

c) 2-DESOXY-D-GLUCOSA Y GLUCOSAMINA.- El primero inhibe la multiplicación de muchos virus que maduran en la membrana celular. Se cree que esta droga interfiere con la síntesis de glucoproteínas específicas de virus que son constituyentes esenciales de las envolturas de Ortomyxo- y Paramyxovirus. En cultivos celulares, la glucosamina produce un efecto antiviral similar (20).

III.- CARACTERISTICAS DE LA INHIBICION DE LA HEMAGLUTINACION

Es claro que muchos virus aglutinan células rojas de ciertas especies. Muchas reacciones de aglutinación tienen temperaturas óptimas en algún punto entre la temperatura de refrigeración y 37 C; y muchas pueden ser realizadas a temperatura del laboratorio (45). Una categoría de aglutinación involucra la aglutinación espontánea de los eritrocitos por ciertos virus. Esta reacción de hemaglutinación viral puede inhibirse de manera específica en presencia de anticuerpos -- antivirales. Por lo tanto, la hemaglutinación viral puede emplearse para medir -- la cantidad de virus o para determinar, por inhibición homóloga, el título de -- los antisueros producidos en contra de los virus hemaglutinantes (45).

La inhibición de la hemaglutinación, si se realiza de manera cuidadosa con antígenos altamente purificados, puede ser usada como un indicador sensible de -- la cantidad del antígeno en diversos líquidos de los tejidos. La inhibición de -- la hemaglutinación empleando reacciones de hemaglutinación pasiva ha sido semi-- automatizada mediante la utilización de placas de microtitulación, la cual es -- sensible para medir antígenos a concentraciones de 0.2 a 9 microgramos/ml (45).

La inhibición de la hemaglutinación de los eritrocitos recubiertos con antígeno, por el antígeno homólogo, es un método sensible y específico para la identificación de pequeñas cantidades de antígeno soluble en la sangre u otros líquidos de los tejidos. El principio de este análisis es que, el anticuerpo incubado previamente con antígenos homólogos solubles o de reacción cruzada es "inactivado" cuando se incubaba con eritrocitos recubiertos de antígeno (45).

La hemaglutinación generalmente es mediada por las mismas áreas en la superficie de la partícula viral que están relacionadas con las primeras etapas de infección del virus y ellas pueden ser inactivadas por combinación con el anticuerpo antiviral específico (45). Los anticuerpos pueden inhibir la hemaglutinación

bloqueando los antígenos particularmente responsables de este fenómeno en la superficie del virión (9). Por lo tanto, los anticuerpos virusneutralizantes son frecuentemente también anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación, y aunque las pruebas no son exactamente equivalentes es frecuentemente posible el usar -- pruebas simples de hemaglutinación en lugar de pruebas de neutralización en el estudio de la composición de los antígenos virales y de los títulos de anticuerpos existentes en los sueros (45).

Las hemaglutininas de muchos virus son inhibidas por sustancias diferentes a los anticuerpos que están presentes en extractos de tejidos y en suero, las -- cuales tienen que ser retiradas por norma, para obtener mediciones exactas de -- concentraciones de anticuerpos. Aunque se les llama inhibidores "no específicos" sería mejor llamarlos inhibidores "no anticuerpos", ya que no son anticuerpos; -- diferentes sustancias tales como las lipoproteínas y las glucoproteínas inhiben específicamente la aglutinación por virus de diferentes grupos (45). Los sueros se inactivan por calor antes de su uso, para eliminar al complemento (20) e inhibidores no específicos termolábiles (9).

El mecanismo de la prueba de inhibición de la hemaglutinación consiste en -- hacer interactuar un suero inmune con su hemaglutinina correspondiente, ante la presencia de un sistema apropiado de eritrocitos (7). La prueba depende de la ha -- bilidad de un suero inmune para inhibir específicamente sus hemaglutininas homó -- logas, de modo que ya no aglutinen a los eritrocitos (7).

La prueba de inhibición de la hemaglutinación es muy sensible, y con excep -- ción de los Togavirus, específica. Mide solamente aquellos anticuerpos que se -- unen directamente a la hemaglutinina viral (con las puntas de las proyecciones -- de los peplómeros de la mayoría de los virus con envoltura) y posiblemente tam -- bién aquellos que se unen a otros antígenos tan estrechamente contiguos a la he -- maglutinina, que el anticuerpo puede inhibir la hemaglutinación por obstáculo es

pacial (en la disposición de los átomos). Estos antígenos superficiales son generalmente de tipo específico (9).

SENSIBILIDAD RELATIVA DE DIVERSAS PRUEBAS INMUNOLÓGICAS (23)

PRUEBA	MÍNIMO DE ANTICUERPOS (microgramos)/ DETECTABLES POR MILILITRO
Precipitación en tubo	0.1
Inmunodifusión	0.1 - 0.3
Aglutinación cualitativa	0.05
Aglutinación cuantitativa	0.02 - 0.1
Hemaglutinación indirecta	0.001
Inhibición de la hemaglutinación	0.001
Coombs	0.01
Fijación del complemento	0.05
Anticuerpos fluorescentes	1.0

Rose, N. R. and Friedman, H.; 1980

El título de la inhibición de la hemaglutinación se expresa como la recíproca de la dilución más alta de suero que inhibe completamente la hemaglutinación (20). La presencia de anticuerpos en una muestra de suero no posee valor diagnóstico de infección reciente, ya que ciertos anticuerpos pueden persistir después de infecciones previas o vacunación (20).

OBJETIVOS

A) Conocer si con anterioridad a 1980, año en que se diagnosticó por primera vez el "síndrome del ojo azul", existía algún indicio serológico de la presencia del Paramyxovirus porcino LPM; al cual se le ha considerado como posible agente - etiológico del mencionado síndrome.

B) Determinar la presencia de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación (IH) en algunos estados del país.

C) Elaborar mapas de distribución de reactores positivos, sospechosos y negativos, por año y lugar de procedencia, de acuerdo con los resultados obtenidos.

MATERIAL Y METODOS

A) MUESTRAS DE SUERO.- Se trabajaron 1742 sueros de cerdos de ambos sexos, - con peso y edad variable; colectados en el periodo comprendido entre 1972 y 1986; y de diversas procedencias.

Los sueros se obtuvieron estérilmente y se manejaron mediante el procedimiento seguido en el Laboratorio de Virología del INIFAP, SARH (Correa G., 1986, comunicación personal).

1. Desinfección de la piel del canal yugular con una torunda impregnada de alcohol o tintura de yodo.

2. Extracción a partir de la vena yugular, con una jeringa de 20 ml y aguja de 2 pulgadas, número 18, de un volumen cercano a los 20 ml de sangre.

3. La sangre se pasó a un frasco estéril, para ello fue indispensable retirar la aguja, evitando así la destrucción de los eritrocitos por aumento de la presión.

4. Se dejó coagular la sangre en un lugar fresco durante un periodo mínimo de 30 minutos.

5. El suero obtenido fue decantado a otro frasco estéril cerca de un mechero de alcohol.

6. El suero fue refrigerado y así transportado al laboratorio.

7. El suero se centrifugó a 500 xg durante 10 minutos a 4 C.

8. El suero sobrenadante se decantó a un vial estéril, el cual fue rotulado y congelado a -20 C.

De esta manera, los sueros que se trabajaron en este estudio han sido conservados a -20 C en el Laboratorio de Virología del INIFAP, SARH.

Ver tabla 1, mapas 1 y 1A.

Tabla 1.- AÑO, PROCEDENCIA Y TAMAÑO DE LA MUESTRA ESTUDIADA EN EL ANALISIS
RETROSPECTIVO (1972-1986) CONTRA EL Paramyxovirus porcino LPM.

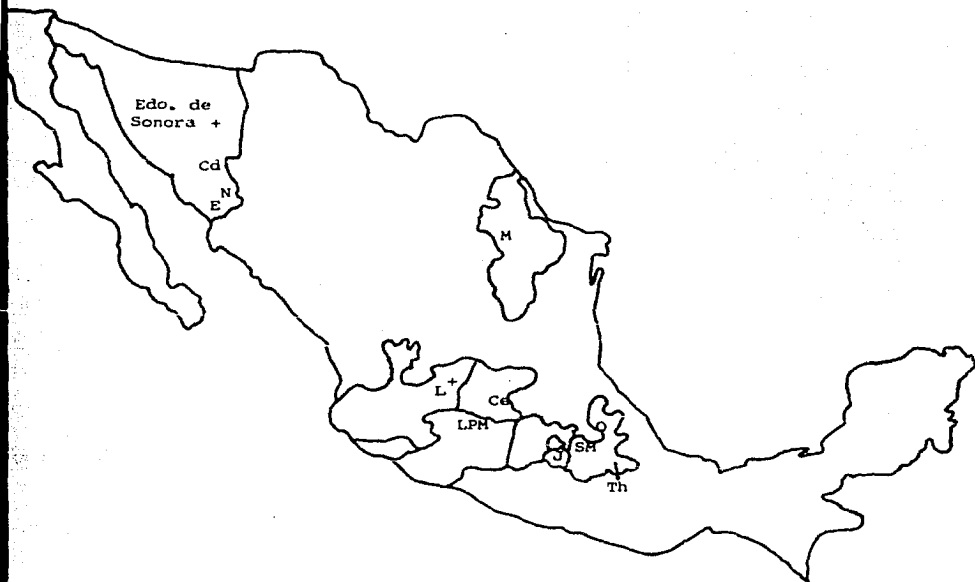
<u>AÑO</u>	<u>PROCEDENCIA</u>	<u>TAMAÑO DE LA MUESTRA</u>
1972	Atizapán, Méx.	153
1973	Atizapán, Méx.	100
	Desconocida	7
1974	Atizapán, Méx.	51
	La Piedad, Mich.	4
1975	Atizapán, Méx.	29
1976	Atizapán, Méx.	17
1977	Texcoco, Méx.	17
	La Piedad, Mich.	31
	Jilotepec, Méx.	1
	Navojoa, Son.	2
	Desconocida	37
1978	Edo. de Sonora*	9
	Huehuetoca, Méx.	5
	Toluca, Méx.*	8
	Zumpango, Méx.*	6
	Cuautitlán, Méx.*	2
	Edo. de Sonora	3
	San Pedro de los Pinos, D. F.	1
	Monterrey, N. L.	6
	Teoloyucan, Méx.	25
	Teoloyucan, Méx.*	3

* Muestras colectadas en el Rastro de Tlalnepantla, Edo. de México.

Tabla 1.- CONTINUACION.

	Lagos de Moreno, Jal.*	3
	Desconocida	20
1979	Cuautilán, Méx.	46
	Celaya, Gto.	33
	Desconocida	5
1980	Texcoco, Méx.	82
	Oriental, Pue.	5
	San Martín Texmelucan, Pue.	1
	Ampliación Sta. Martha Acatitla, D. F.	5
	Desconocida	6
1981	Texcoco, Méx.	8
	Tehuacán, Pue.	7
	Desconocida	86
1982	Jiutepec, Mor.	237
1983	Texcoco, Méx.	22
	Jiutepec, Mor.	27
	San Martín Texmelucan, Pue.	2
	Tehuacán, Pue.	226
	Desconocida	14
1984	Etchojoa, Son.	20
	Cd. Obregón, Son.	16
	Desconocida	107
1985	Toluca, Méx.	30
	La Piedad, Mich.	138
1986	Texcoco, Méx.	39
	Toluca, Méx.	40

Mapa 1.- PROCEDENCIA Y LOCALIZACION EN LA REPUBLICA MEXICANA DE LA MUESTRA ESTUDIADA EN EL ANALISIS RETROSPECTIVO (1972-1986) CONTRA EL Para myxovirus porcino LPM.



+ Algunas de estas muestras fueron colectadas en el Rastro de Tlalnepantla, Edo. de México.

Edo. de Sonora

Cd = Ciudad Obregón, Son.

N = Navojoa, Son.

E = Etchojoa, Son.

M = Monterrey, N. L.

L = Lagos de Moreno, Jal.

Ce = Celaya, Gto.

LPM = La Piedad, Mich.

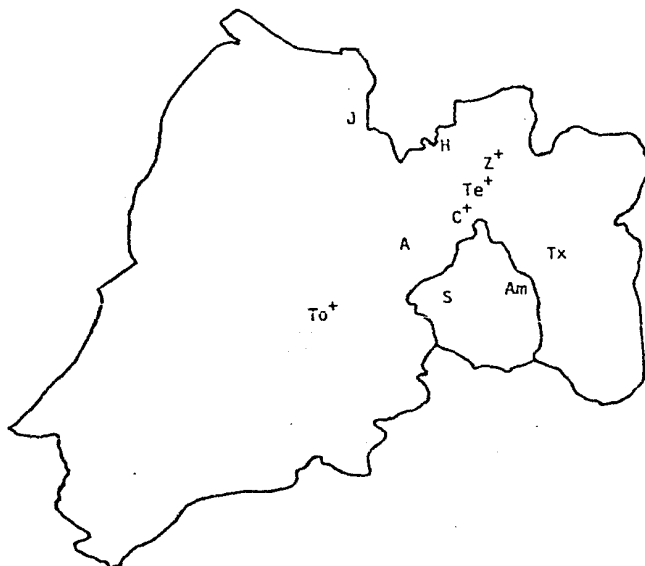
O = Oriental, Pue.

SM = San Martín Texmelucan, Pue.

J = Jiutepec, Mor.

Th = Tehuacán, Pue.

Mapa 1A.-- PROCEDENCIA Y LOCALIZACION EN EL ESTADO DE MEXICO Y DISTRITO FEDERAL DE LA MUESTRA ESTUDIADA EN EL ANALISIS RETROSPECTIVO (1972-1986) CONTRA EL Paramyxovirus porcino LPM.



ESTADO DE MEXICO

J = Jilotepec
 H = Huehuetoca
 Z = Zumpango
 Te = Teoloyucan
 A = Atizapán
 C = Cuahtitlán
 Tx = Texcoco
 To = Toluca

DISTRITO FEDERAL

Am = Ampliación Sta. Martha Acatitla
 S = San Pedro de los Pinos

+ Algunas de estas muestras fueron colectadas en el Rastro de Tlalnepantla, Edo. de México.

B) PREPARACION DE LA SOLUCION AMORTIGUADORA DE FOSFATOS (PBS) (7).

1. Fosfato disódico	1.069 g
2. Fosfato monosódico	0.315 g
3. Cloruro de sodio	8.5 g
4. Agua destilada	1.0 l

Ajustar el pH a 7.2.

C) PREPARACION DEL ANTIGENO.- El Paramixovirus aislado por Martínez y colaboradores en 1984 (6, 14, 15, 21) se propagó en monoestratos de células de cornete de bovino (BT) contenidas en botellas de Blake ^{1/}. Cuando el monoestrato presentó un 75% de efecto citopático, se congelaron las botellas a -70 C para sacrificar - las células, descongelando posteriormente a temperatura del laboratorio. La suspensión se centrifugó a 2000 xg durante 15 minutos a 4 C. El sobrenadante se separó en alícuotas de 1 ml, las cuales se congelaron simultáneamente a -70 C (Correa G., 1986, comunicación personal).

D) PREPARACION DE LA SUSPENSION DE ERITROCITOS.- Siguiendo la técnica descrita por Cottral (7), modificada.

1. Se colectó sangre completa a partir de un gallo Rode-island, de aproximadamente 8 meses de edad, por punción de la vena radial del ala. Para ello se ocuparon tubos Vacutainer que contenían EDTA (Na₂) ^{2/} con vacío suficiente para extraer aproximadamente 7 ml de sangre. Se utilizaron agujas Vacutainer.

2. La sangre fue centrifugada a 500 xg durante 10 minutos a 4 C, desechando el plasma.

^{1/} Thomas Scientific, 3501-L 15.

^{2/} Becton, Dickinson de México, S. A. de C. V.; 4739.

3. Se lavó el paquete de eritrocitos 3 veces con PBS volumen x volumen, re--suspendiendo y desechando el sobrenadante después de centrifugar a 500 xg durante 10 minutos. Después de centrifugar por tercera vez, el PBS debe ser incoloro.

4. Se preparó una suspensión de glóbulos rojos al 0.5% con PBS.

Se ha observado que los títulos hemaglutinantes del virus LPM más altos, se obtienen con eritrocitos de pollo, cobayo y pavo (21), por ello en este trabajo - se utilizaron eritrocitos de gallo.

E) TITULACION DEL ANTIGENO.- (12 modificada); el paso preliminar a la realización de la prueba de IH es el determinar el título hamaglutinante del virus. Es to es necesario porque la actividad hemaglutinante de las diversas cepas de virus puede diferir. La actividad también varía con la concentración de la suspensión - de eritrocitos (7).

Se utilizaron placas de microtitulación de 96 pozos con fondo en "U"^{3/}.

1. Se colocaron 0.050 ml de PBS en cada pozo, de las filas marcadas con los números 1, 2, 3 y 4; desde A hasta H.

2. Se agregaron 0.050 ml de antígeno en la primera línea de pozos (fila A).

3. Se hicieron diluciones dobles con los microdilutores de 0.050 ml^{4/}, se de jó la última fila de pozos (H) sin introducir los microdilutores. La fila H co--- rresponde al control de eritrocitos.

4. Se agregó 0.050 ml de la suspensión de eritrocitos al 0.5% a cada pozo.

5. Se incubó a temperatura de laboratorio durante una hora.

6. Se hizo la lectura a los 60 minutos.

3/ Limbro Scientific Co., Inc., IS-MRC-96.

4/ Dynatech Laboratories Incorporated, 1-220-34-1.

Una capa de glóbulos rojos delgada, de bordes difusos, en el fondo del pozo, o del tubo, indica hemaglutinación positiva; mientras que una capa compacta en -- forma de botón, con el borde liso, corresponde a hemaglutinación negativa. La dilución más alta del virus que causa hemaglutinación completa, corresponde a una -- unidad hemaglutinante (UHA) (20). De esta manera se puede calcular la dilución a la cual debe ser usado el antígeno para tener de 4 a 8 UHA en 0.025 ml.

F) TRATAMIENTO A LOS SUEROS (7).- Debido a que pueden observarse reacciones inespecíficas, particularmente al estudiar sueros de bovinos para detectar anti-- cuerpos contra el Paramyxovirus de la Parainfluenza-3, se eligió este tratamiento, tomando en cuenta que en el presente estudio también se trabajaba con un Paramyxovirus. Por ello se siguió la técnica de Cottral (7) modificada.

1. Se preparó una dilución 1:5 en PBS del suero a probar; mezclando en un tubo 0.3 ml del suero con 1.2 ml de PBS.

2. Se adicionó 0.1 g de caolín lavado y quemado^{5/}, se agitó. Permitiendo la adsorción, dejando reposar durante 10 minutos a temperatura de laboratorio.

3. Se centrifugó a 500 xg durante 10 minutos a 4 C.

4. Se removió el suero que quedó arriba del paquete de caolín (sobrenadante) decantándolo.

5. Se colocó en baño María a 56 C durante 30 minutos.

El suero inactivado, que fue diluido 1:5 ahora está listo para la prueba de inhibición de la hemaglutinación.

5/ J. T. Baker Chemical, 2240.

G) SUEROS CONTROLES.-

1. NEGATIVO.- Se sangró un conejo procedente del Bioterio del INIFAP, SARH. por punción cardiaca, y se tituló su suero mediante IH. Al no haber tenido contacto con el antígeno, no debe haber anticuerpos, por lo tanto este suero será negativo y puede ser utilizado como control.

2. POSITIVO.- Se sangró un conejo del Bioterio del INIFAP, SARH, por punción cardiaca, y se tituló su suero mediante IH. Al resultar negativo, se elaboró un esquema de inmunización: La primera semana se inoculó 2 ml vfa intramuscular (IM); la segunda semana 2.5 ml vfa IM; la tercera semana se aplicaron dos inoculaciones de 0.5 ml cada una, vfa intravenosa (IV) en la vena marginal de la oreja; la cuarta semana, se aplicaron dos inoculaciones vfa IV, una de 0.6 ml y otra de 1 ml; - en la quinta semana, se inocularon dos veces vfa IV, la primera fue de 1.35 ml y la segunda de 1.5 ml; en la sexta y última semana, se aplicó una sola inoculación de 5 ml vfa IV. De esta manera se obtuvo el suero hiperinmune contra el Paramyxovirus porcino LPM (Correa G., 1986, comunicación personal). Tanto el suero negativo como el positivo fueron tratados (diluidos, adsorbidos e inactivados) de igual manera que los sueros problema (7).

H) PRUEBA DE INHIBICION DE LA HEMAGLUTINACION.- Para esta prueba se siguió - la técnica de Jenney y Snyder, 1981 (12) modificada. Se utilizaron placas de microtitulación de 96 pozos con fondo en "U"^{6/}.

1. Se colocaron 0.025 ml de PBS en todos los pozos, excepto en la línea A.
2. Se depositaron 0.025 ml del suero ya tratado en los pozos A, B y H.
3. Se realizaron diluciones dobles con los sueros, ocupando para ello los mi

6/ Limbro Scientific Co., Inc., IS-MRC-96.

crodilutores de 0.025 ml ^{Z/}, a partir del pozo B y llegando hasta el G. En la 1f--nea A qued6 el suero diluido 1:5; en la B qued6 1:10; y asf sucesivamente hasta - la G (1:20, 1:40, 1:80, 1:160 y 1:320, respectivamente). El pozo H, conteniendo - el suero diluido 1:5, qued6 como control del suero problema correspondiente. Para cada suero se utilizaron 2 filas de pozos.

4. Basándose en la titulación previa del antígeno, la suspensión viral que - se utilizó fue diluida en PBS, de modo que contuviera de 4 a 8 UHA de antígeno -- por cada 0.025 ml, manteniéndose a 4 C.

5. Se agregó 0.025 ml del antígeno a todos los pozos, excepto a los del control del suero (pozos H).

6. Se permitió la reacción antígeno-anticuerpo incubando durante una hora a temperatura del laboratorio.

7. Se agregó 0.050 ml de la suspensión de eritrocitos de gallo al 0.5% a todos los pozos.

8. Se incubó durante 30 minutos a temperatura del laboratorio, para permitir así la reacción de inhibición de la hemaglutinación.

9. Los dos sueros controles se trabajaron simultáneamente.

10. Para corroborar el que se hayan empleado de 4 a 8 UHA de antígeno, se tituló la suspensión de virus empleada, mediante la prueba de HA, para esto se utilizaron 4 pozos para cada dilución doble.

Para la interpretación de los resultados de las pruebas de IH realizadas por el método alfa, se siguió el criterio que a continuación se describe: el título - IH de un suero probado, corresponde a la dilución más alta de este suero que inhi - bió completamente la HA, manifestada mediante la formación de una película color salmón, con bordes rugosos en el fondo del pozo. Para que los resultados de una -

prueba dada sean válidos, los pozos conteniendo el suero control positivo y los - pozos con eritrocitos (control del suero problema) deben mostrar un botón de eritrocitos, de borde circular y liso, rojo, el cual al inclinar la placa se desliza por gravedad. Todos los pozos usados para la titulación del suero conocido negativo, deben mostrar la típica película color salmón de la HA; y el título del suero inmune conocido (control positivo) debe caer dentro de una dilución doble arriba o una dilución doble abajo del título conocido de ese suero (7).

RESULTADOS

Los resultados del presente trabajo se encuentran resumidos en el Cuadro 2 y Gráfica 1.

Cuadro 2.- TITULOS IH CONTRA EL Paramyxovirus porcino LPM EN SUEROS DE CERDOS COLECTADOS DE 1972 A 1986.

AÑO MUESTRA	TITULO IH													
	(-)	^{B/} 5	7.5	10	15	20	30	40	80	160	320	640	1280	
1972	153	53	18		29		26		19	8				
1973	107	76	15	3	13									
1974	55	31	5	4	8	4	3							
1975	29	15	2	2	4	4	2							
1976	17	14	2		1									
1977	88	55	14		9	1	6		3					
1978	91	53	22	2	9	2	3							
1979	34	27	34	9	8	4	2							
1980	99	90	6	1	2									
1981	101	91	9	1										
1982	237	149	32	8	43	3	1	1						
1983	291	125	28	16	91	19	12							
1984	143	133	10											
1985	168	70	13	1	9		18		6	26	6	8	8	3
1986	79	79												
TOTAL	1742	1961	210	47	226	37	73	1	28	34	6	8	8	3
%	100	60.9	12.05	2.6	12.6	2.12	4.19	.05	1.6	1.95	.34	.45	.45	.17

B/ 5 = 1:5 y así sucesivamente.

RESULTADOS

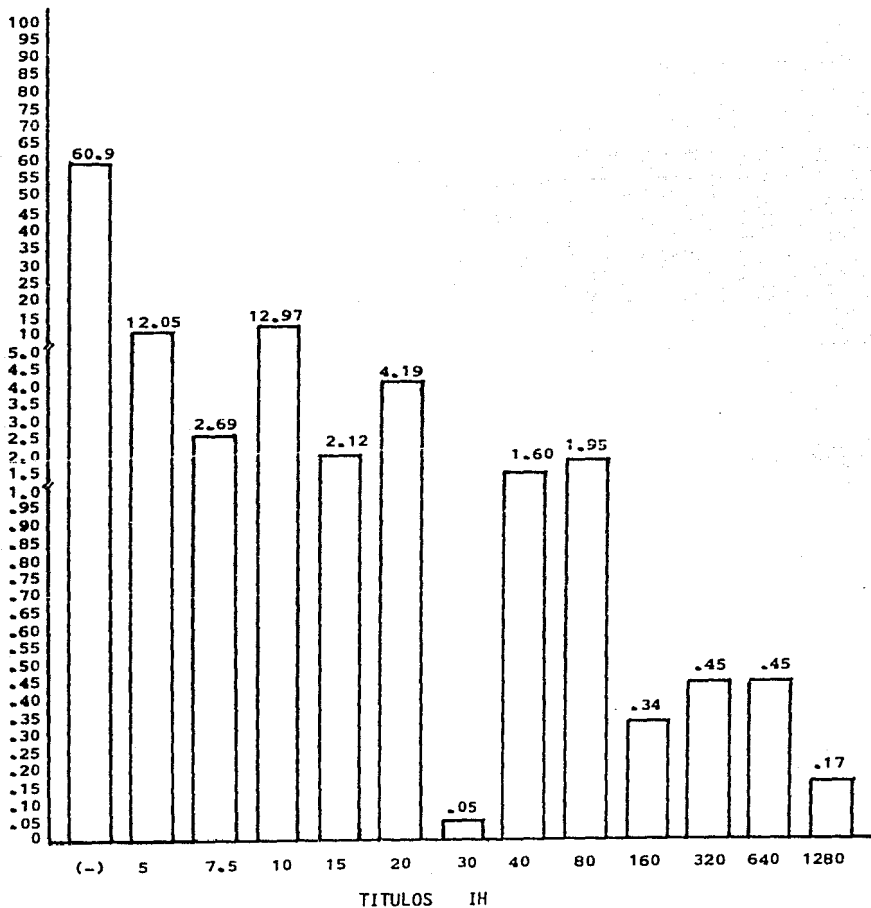
Los resultados del presente trabajo se encuentran resumidos en el Cuadro 2 y Gráfica 1.

Cuadro 2.- TITULOS IH CONTRA EL Paramyxovirus porcino LPM EN SUEROS DE CERDOS COLECTADOS DE 1972 A 1986.

AÑO MUESTRA	(-)	TITULO IH												
		5 ^{B/}	7.5	10	15	20	30	40	80	160	320	640	1280	
1972	153	53	18		29		26		19	8				
1973	107	76	15	3	13									
1974	55	31	5	4	8	4	3							
1975	29	15	2	2	4	4	2							
1976	17	14	2		1									
1977	88	55	14		9	1	6		3					
1978	91	53	22	2	9	2	3							
1979	84	27	34	9	8	4	2							
1980	99	90	6	1	2									
1981	101	91	9	1										
1982	237	149	32	8	43	3	1	1						
1983	291	125	28	16	91	19	12							
1984	143	133	10											
1985	168	70	13	1	9		18		6	26	6	8	8	3
1986	79	79												
TOTAL	1742	1961	210	47	226	37	73	1	28	34	6	8	8	3
%	100	60.9	12.05	2.6	12.6	2.12	4.19	.05	1.6	1.95	.34	.45	.45	.17

B/ 5 = 1:5 y así sucesivamente.

Grafica 1.- REPRESENTACION PORCENTUAL, MANIFESTADA EN BARRAS, DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN EL ANALISIS RETROSPECTIVO (1972-1986) CONTRA EL Para--SUEROS % myxovirus porcino LPM, MEDIANTE IH.



Cuadro 3.- SUEROS POSITIVOS, SOSPECHOSOS Y NEGATIVOS EN EL ANALISIS RETROSPECTIVO (1972-1986) CONTRA EL Paramyxovirus porcino LPM Y SUS RESPECTIVOS PORCENTAJES, CON RELACION AL AÑO DE MUESTREO.

AÑO	MUESTRA	POSITIVOS	%	SOSPECHOSOS	%	NEGATIVOS	%
1972	153	53	34.64	47	30.71	53	34.64
1973	107	0	-	31	28.97	76	71.02
1974	55	3	5.45	21	38.18	31	56.36
1975	29	2	6.89	12	41.37	15	51.72
1976	17	0	-	3	17.64	14	82.35
1977	88	9	10.22	24	27.27	55	62.50
1978	91	3	3.29	35	38.46	53	58.24
1979	84	2	2.38	55	65.47	27	32.14
1980	99	0	-	9	9.09	90	90.90
1981	101	0	-	10	9.90	91	90.09
1982	237	2	0.84	86	36.28	149	62.86
1983	291	12	4.12	154	52.92	125	42.95
1984	143	0	-	10	6.99	133	93.00
1985	168	75	44.64	23	13.69	70	41.66
1986	79	0	-	0	-	79	100.00
TOTAL	1742	161	9.24	520	29.85	1061	60.90

A continuación se muestran los resultados en tres tablas con sus mapas respectivos de localización, los cuales corresponden a la muestra que resultó positiva (tabla 2 y mapa 2); a la muestra que resultó sospechosa (tabla 3, mapas 3 y 3A); y a la muestra que resultó negativa (tabla 4, mapas 4 y 4A).

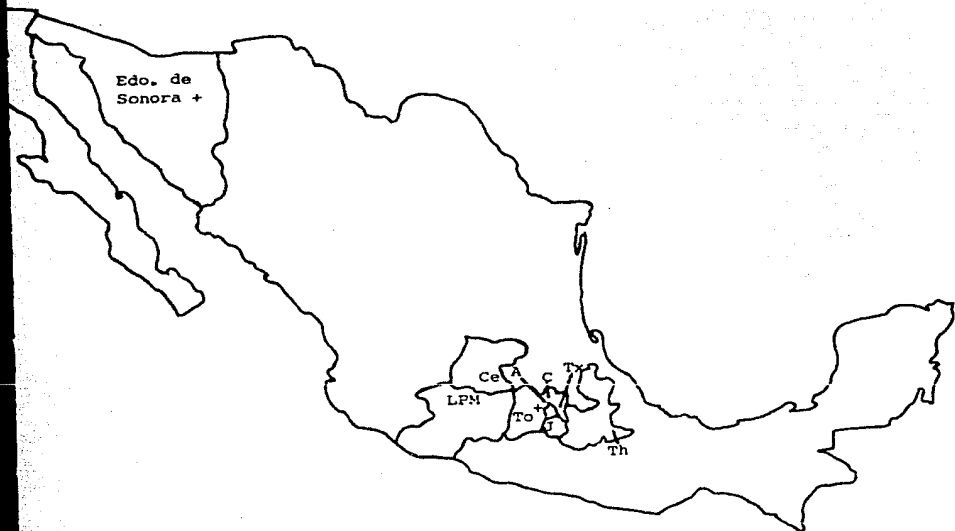
Finalmente se presenta una serie de nueve mapas, de los 8 estados y del Distrito Federal, de donde procede la muestra estudiada. Haciendo referencia a las poblaciones muestreadas y a los resultados obtenidos en cada una de ellas. (ver - mapas del 5 al 13), con respecto al año de colección y al tamaño de la muestra.

Tabla 2.- AÑO, PROCEDENCIA, TÍTULO Y TAMAÑO DE LA MUESTRA QUE RESULTO POSITIVA A LA PRUEBA DE IH EN EL ANALISIS RETROSPECTIVO (1972-1986) CONTRA EL Paramyxovirus porcino LPM.

<u>AÑO</u>	<u>PROCEDENCIA</u>	<u>TÍTULO</u>	<u>TAMAÑO DE LA MUESTRA</u>
1972	Atizapán, Méx.	1:20	26
	Atizapán, Méx.	1:40	19
	Atizapán, Méx.	1:80	8
1974	Atizapán, Méx.	1:20	3
1975	Atizapán, Méx.	1:20	2
1977	Texcoco, Méx.	1:20	6
	Texcoco, Méx.	1:40	3
1978	Edo. de Sonora*	1:20	1
	Toluca, Méx.*	1:20	1
	Desconocida	1:20	1
1979	Celaya, Gto.	1:20	1
	Cuautitlán, Méx.	1:20	1
1982	Jiutepec, Mor.	1:20	1
	Jiutepec, Mor.	1:30	1
1983	Tehuacán, Pue.	1:20	12
1985	La Piedad, Mich.	1:20	18
	La Piedad, Mich.	1:40	6
	La Piedad, Mich.	1:80	26
	La Piedad, Mich.	1:160	6
	La Piedad, Mich.	1:320	8
	La Piedad, Mich.	1:640	8
	La Piedad, Mich.	1:1280	3

* Muestras colectadas en el Rastro de Tlalnepantla, Edo. de México.

Mapa 2.- LOCALIZACION EN LA REPUBLICA MEXICANA DE LOS SUEROS REACTORES POSITIVOS EN EL ANALISIS RETROSPECTIVO (1972-1986) CONTRA EL Paramyxovirus porcino LPM.



+ Muestras colectadas en el Rastro de Tlalnepanitla, Edo. de México.

Ce = Celaya, Gto.
 LPM = La Piedad, Mich.
 A = Atizapán, Méx.
 C = Cuautitlán, Méx.
 Tx = Texcoco, Méx.

To = Toluca, Méx.
 J = Jiutepec, Mor.
 Th = Tehuacán, Pue.
 Edo. de Sonora.

Tabla 3.- ARO, PROCEDENCIA, TITULO Y TAMARO DE LA MUESTRA QUE SE CONSIDERO SOSPECHOSA A LA PRUEBA DE IH, POR MOSTRAR TITULO MENOR A 1:20 EN EL ANALISIS RETROSPECTIVO (1972-1986) CONTRA EL Paramyxovirus -- porcino LPM.

<u>ARO</u>	<u>PROCEDENCIA</u>	<u>TITULO</u>	<u>TAMARO DE LA MUESTRA</u>
1972	Atizapán, Méx.	1:5	18
	Atizapán, Méx.	1:10	29
1973	Atizapán, Méx.	1:5	15
	Atizapán, Méx.	1:7.5	3
	Atizapán, Méx.	1:10	12
	Desconocida	1:10	1
1974	Atizapán, Méx.	1:5	5
	Atizapán, Méx.	1:7.5	4
	Atizapán, Méx.	1:10	7
	La Piedad, Mich.	1:10	1
	Atizapán, Méx.	1:15	4
1975	Atizapán, Méx.	1:5	2
	Atizapán, Méx.	1:7.5	2
	Atizapán, Méx.	1:10	4
	Atizapán, Méx.	1:15	4
1976	Atizapán, Méx.	1:5	2
	Atizapán, Méx.	1:10	1
1977	Texcoco, Méx.	1:5	1
	La Piedad, Mich.	1:5	2
	Desconocida	1:5	11
	Texcoco, Méx.	1:10	2
	Jilotepec, Méx.	1:10	1

Tabla 3.- CONTINUACION.

	Navojoa, Son.	1:10	2
	La Piedad, Mich.	1:10	2
	Desconocida	1:10	2
	Texcoco, Méx.	1:15	1
1978	Toluca, Méx.*	1:5	1
	Teoloyucan, Méx.	1:5	8
	Zumpango, Méx.*	1:5	4
	Huehuetoca, Méx.	1:5	1
	Teoloyucan, Méx.*	1:5	2
	Edo. de Sonora	1:5	1
	Desconocida	1:5	5
	Lagos de Moreno, Jal.*	1:7.5	2
	Edo. de Sonora*	1:10	2
	Toluca, Méx.*	1:10	2
	Teoloyucan, Méx.	1:10	3
	Desconocida	1:10	2
	Toluca, Méx.*	1:15	1
	Lagos de Moreno, Jal.*	1:15	1
1979	Cuautitlán, Méx.	1:5	24
	Celaya, Gto.	1:5	9
	Desconocida	1:5	1
	Celaya, Gto.	1:7.5	5
	Cuautitlán, Méx.	1:7.5	3
	Desconocida	1:7.5	1

* Muestras colectadas en el Rastro de Tlalnepantla, Edo. de México.

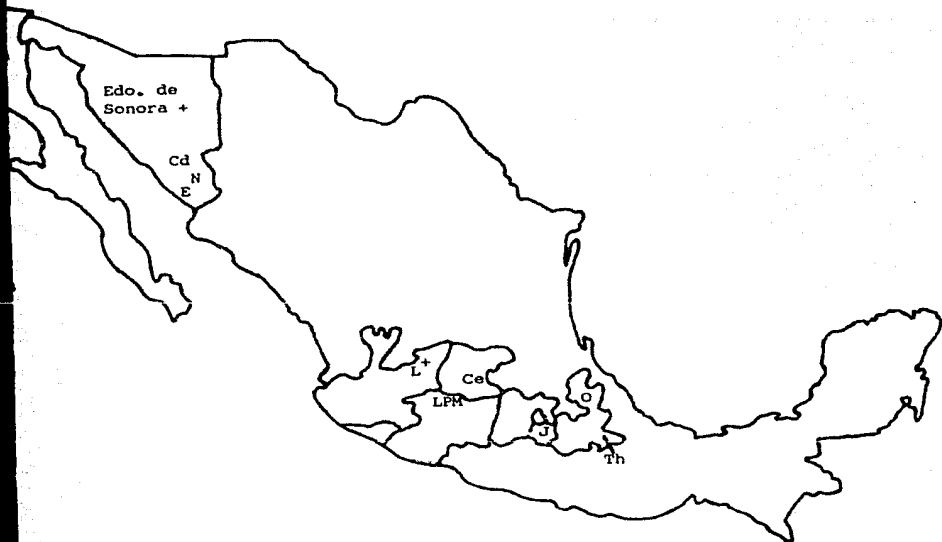
Tabla 3.- CONTINUACION.

	Celaya, Gto.	1:10	8
	Celaya, Gto.	1:15	2
	Cuautitlán, Méx.	1:15	1
	Desconocida	1:15	1
1980	Ampliación Sta. Martha Acatitla, D. F.	1:5	3
	Oriental, Pue.	1:5	3
	Ampliación Sta. Martha Acatitla, D. F.	1:7.5	1
	Oriental, Pue.	1:10	1
	Desconocida	1:10	1
1981	Texcoco, Méx.	1:5	5
	Desconocida	1:5	4
	Desconocida	1:7.5	1
1982	Jiutepec, Mor.	1:5	32
	Jiutepec, Mor.	1:7.5	8
	Jiutepec, Mor.	1:10	43
	Jiutepec, Mor.	1:15	3
1983	Texcoco, Méx.	1:5	7
	Jiutepec, Mor.	1:5	4
	Tehuacán, Pue.	1:5	14
	Desconocida	1:5	3
	Texcoco, Méx.	1:7.5	1
	Jiutepec, Mor.	1:7.5	1
	Tehuacán, Pue.	1:7.5	14
	Jiutepec, Mor.	1:10	13
	Tehuacán, Pue.	1:10	76

Tabla 3.- CONTINUACION.

	Desconocida	1:10	2
	Jiutepec, Mor.	1:15	2
	Tehuacán, Pue.	1:15	16
	Desconocida	1:15	1
1984	Cd. Obregón, Son.	1:5	3
	Etchojoa, Son.	1:5	5
	Desconocida	1:5	2
	Toluca, Méx.	1:5	2
1985	La Piedad, Mich.	1:5	11
	La Piedad, Mich.	1:7.5	1
	La Piedad, Mich.	1:10	9

Mapa 3.- LOCALIZACION EN LA REPUBLICA MEXICANA DE LOS SUEROS REACTORES SOSPECHOSOS, CON TITULO MENOR A 1:20 EN EL ANALISIS RETROSPECTIVO (1972-1986) CONTRA EL Paramyxovirus porcino LPM.



+ Algunas de estas muestras fueron colectadas en el Rastro de Tlalnepantla, Edo. de México.

Edo. de Sonora

Cd = Ciudad Obregón, Son.

N = Navojoa, Son.

E = Etchojoa, Son.

L = Lagos de Moreno, Jal.

Ce = Celaya, Gto.

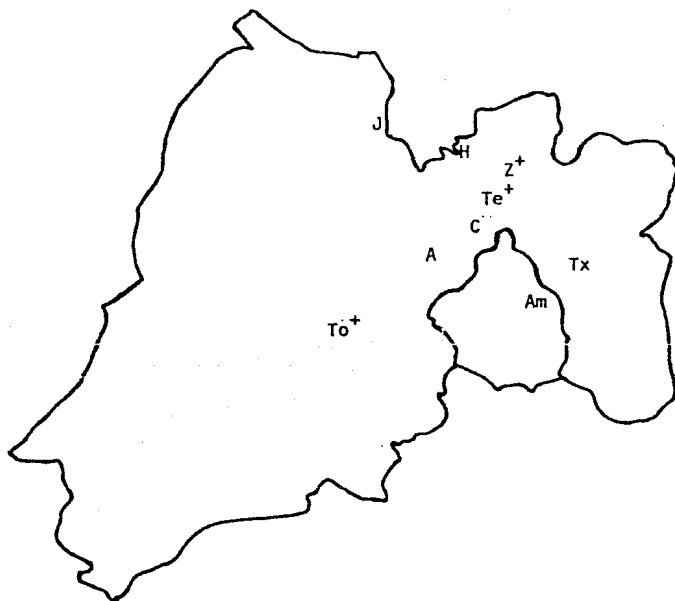
LPM = La Piedad, Mich.

J = Jiutepec, Mor.

O = Oriental, Pue.

Th = Tehuacán, Pue.

Mapa 3A.- LOCALIZACION EN EL ESTADO DE MEXICO Y DISTRITO FEDERAL DE LOS SUEROS REACTORES SOSPECHOSOS, CON TÍTULO MENOR A 1:20 EN EL ANALISIS RETROSPECTIVO (1972-1986) CONTRA EL Paramyxovirus porcino LPM.



J = Jilotepec, Méx.
 H = Huehuetoca, Méx.
 Z = Zumpango, Méx.
 Te = Teoloyucan, Méx.
 C = Cuautitlán, Méx.

A = Atizapán, Méx.
 Tx = Texcoco, Méx.
 To = Toluca, Méx.
 Am = Ampliación Sta. Martha Acatitla,
 D. F.

+ Algunas de estas muestras fueron colectadas en el Rastro de Tlalnepantla, Edo. de México.

Tabla 4.- AÑO, PROCEDENCIA Y TAMAÑO DE LA MUESTRA QUE RESULTO NEGATIVA A LA PRUEBA DE IH EN EL ANALISIS RETROSPECTIVO (1972-1986) CONTRA EL Paramyxovirus porcino LPM.

<u>AÑO</u>	<u>PROCEDENCIA</u>	<u>TAMAÑO DE LA MUESTRA</u>
1972	Atizapán, Méx.	53
1973	Atizapán, Méx.	70
	Desconocida	6
1974	Atizapán, Méx.	28
	La Piedad, Mich.	3
1975	Atizapán, Méx.	15
1976	Atizapán, Méx.	14
1977	Texcoco, Méx.	4
	La Piedad, Mich.	27
	Desconocida	24
1978	Edo. de Sonora*	6
	San Pedro de los Pinos, D. F.	1
	Toluca, Méx.*	3
	Teoloyucan, Méx.	14
	Zumpango, Méx.*	2
	Monterrey, N. L.	6
	Huehuetoca, Méx.	4
	Teoloyucan, Méx.*	1
	Cuautitlán, Méx.*	2
	Edo. de Sonora	2
Desconocida	12	

* Muestras colectadas en el Rastro de Tlalnepantla, Méx.

Tabla 4.- CONTINUACION.

1979	Cuautitlán, Méx.	17
	Celaya, Gto.	8
	Desconocida	2
1980	Ampliación Sta. Martha Acatitla, D. F.	1
	Oriental, Pue.	1
	San Martín Texmeluca, Pue.	1
	Texcoco, Méx.	82
	Desconocida	5
1981	Texcoco, Méx.	3
	Tehuacán, Pue.	7
	Desconocida	81
1982	Jiutepec, Mor	149
1983	Texcoco, Méx.	14
	Jiutepec, Mor.	7
	San Martín Texmelucan, Pue.	2
	Tehuacán, Pue.	94
	Desconocida	8
1984	Cd. Obregón, Son.	13
	Etchojoa, Son.	15
	Desconocida	105
1985	Toluca, Méx.	28
	La Piedad, Mich.	42
1986	Toluca, Méx.	40
	Texcoco, Méx.	39

Mapa 4.- LOCALIZACION EN LA REPUBLICA MEXICANA DE LOS SUEROS REACTORES NEGATIVOS EN EL ANALISIS RETROSPECTIVO (1972-1986) CONTRA EL Paramyxovirus porcino LPM.



+ Algunas de estas muestras fueron colectadas en el Rastro de Tlalnepantla, Edo. de México.

Edo. de Sonora

Cd = Ciudad Obregón, Son.

E = Etchojoa, Son.

M = Monterrey, N. L.

Ce = Celaya, Gto.

LPM = La Piedad, Mich.

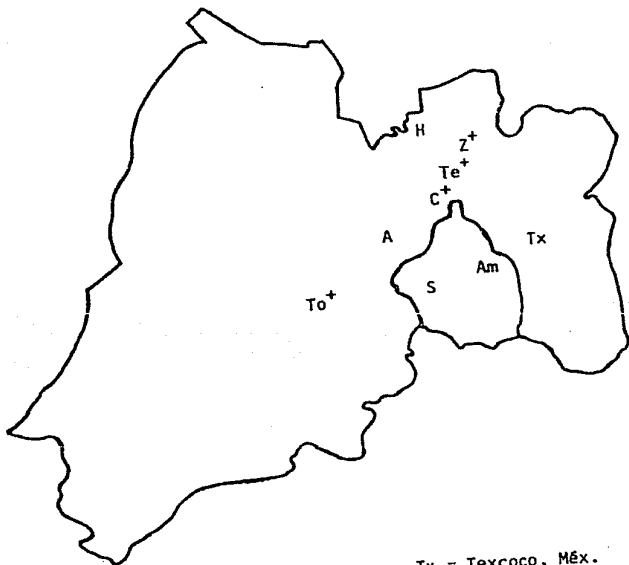
O = Oriental, Pue.

SM = San Martín Texmelucan, Pue.

Th = Tehuacán, Pue.

J = Jiutepec, Mor.

Mapa 4A.- LOCALIZACION EN EL ESTADO DE MEXICO Y DISTRITO FEDERAL DE LOS SUEROS
 REACTORES NEGATIVOS EN EL ANALISIS RETROSPECTIVO (1972-1986) CONTRA
 EL Paramyxovirus porcino LPM.

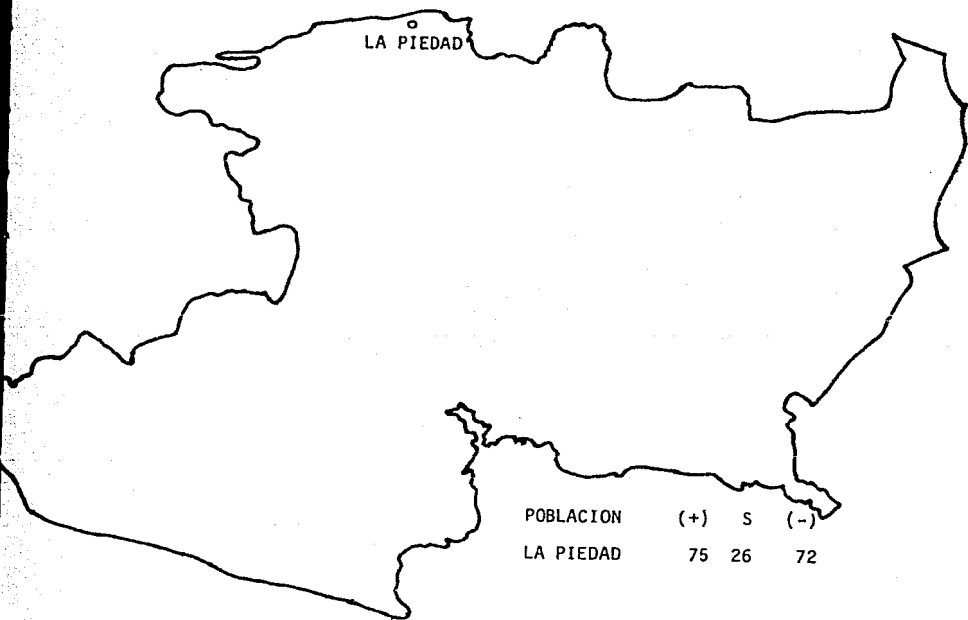


H = Huehuetoca, Méx.
 Z = Zumpango, Méx.
 Te = Teoloyucan, Méx.
 C = Cuautitlán, Méx.
 A = Atizapán, Méx.

Tx = Texcoco, Méx.
 To = Toluca, Méx.
 Am = Ampliación Sta. Martha Acatitla,
 D. F.
 S = San Pedro de los Pinos, D. F.

+ Algunas de estas muestras fueron colectadas en el Rastro de Tlalnepantla, Edo. de México.

Mapa 5.- LOCALIZACION DE LA PIEDAD, MICH., DE DONDE SE ESTUDIARON 173 SUEROS COLECTADOS EN LOS AROS 1974, 1977, Y 1985, EN EL ANALISIS RETROSPECTIVO (1972-1986) CONTRA EL Paramyxovirus porcino LPM.

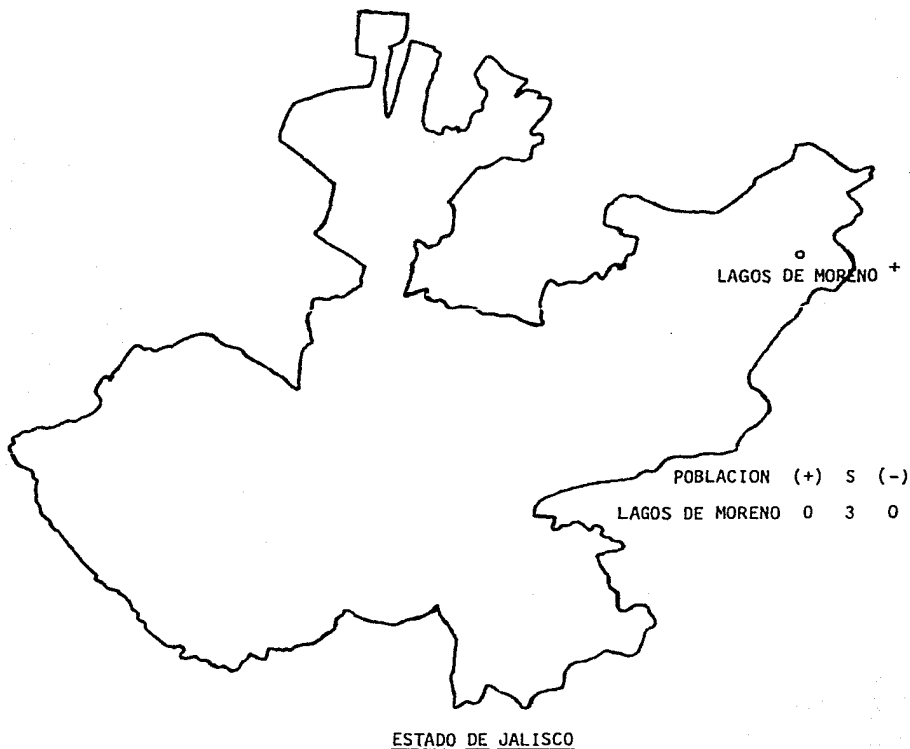


POBLACION	(+)	S	(-)
LA PIEDAD	75	26	72

ESTADO DE MICHOACAN

(+) = POSITIVOS S = SOSPECHOSOS (-) = NEGATIVOS

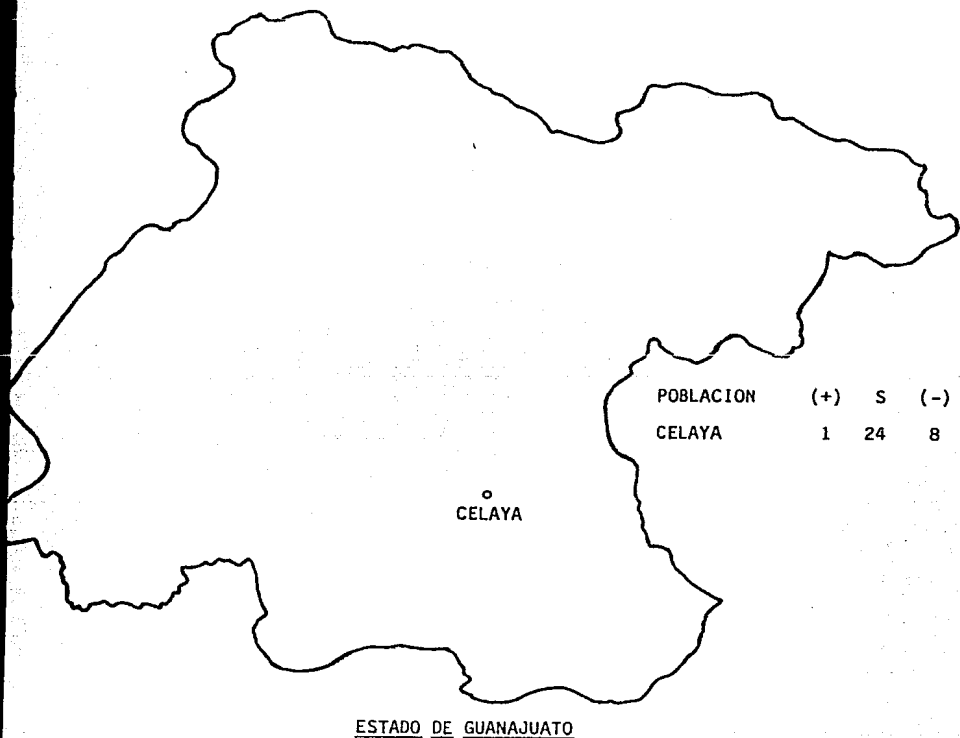
Mapa 6.- LOCALIZACION DE LAGOS DE MORENO, JAL., DE DONDE SE ESTUDIARON 3 SUEROS COLECTADOS EN 1978, EN EL ANALISIS RETROSPECTIVO (1972-1986) CONTRA EL Paramyxovirus porcino LPM.



+ Muestras colectadas en el Rastro de Tlalnepantla, Edo. de México.

(+) = POSITIVOS S = SOSPECHOSOS (-) = NEGATIVOS

Mapa 7.- LOCALIZACION DE CELAYA, GTO., DE DONDE SE ESTUDIARON 33 SUEROS COLECTADOS EN 1979, EN EL ANALISIS RETROSPECTIVO (1972-1986) CONTRA EL Paramyxovirus porcino LPM.



(+) = POSITIVOS S = SOSPECHOSOS (-) = NEGATIVOS

Mapa 8.- LOCALIZACION DE LAS POBLACIONES DEL ESTADO DE MEXICO, DE DONDE SE ESTUDIA
 RON 684 SUEROS COLECTADOS EN 1972, 1973, 1974, 1975, 1976, 1977, 1978, --
 1979, 1980, 1981, 1983, 1985 Y 1986, EN EL ANALISIS RETROSPECTIVO (1972--
 1986) CONTRA EL Paramyxovirus porcino LPM.

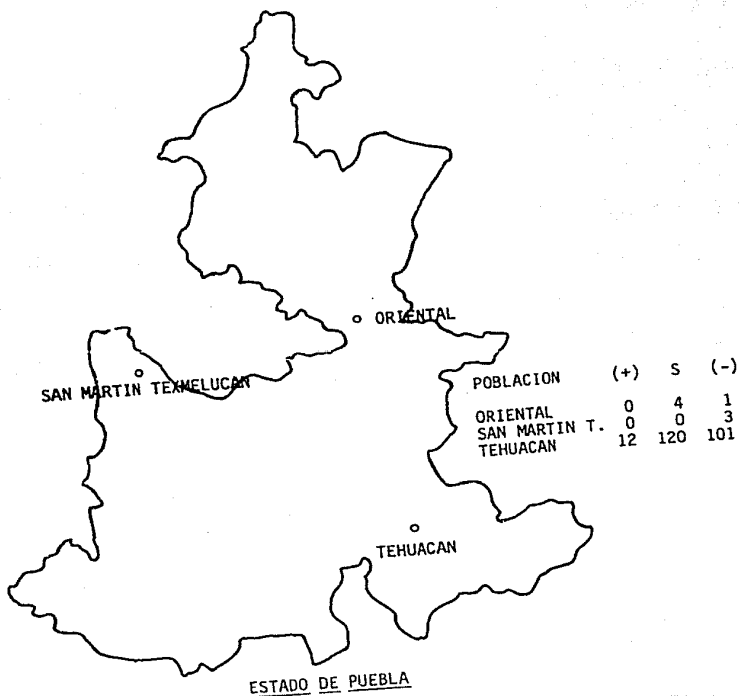


ESTADO DE MEXICO

+ Algunas de estas muestras fueron colectadas en el Rastro de Tlalnepantla,
 Edo. de México.

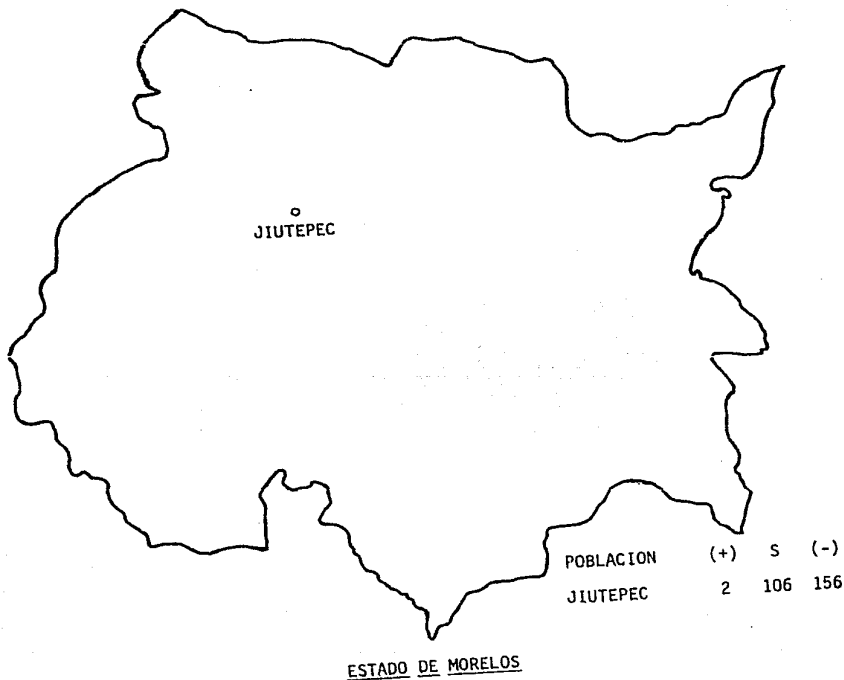
(+) = POSITIVOS S = SOSPECHOSOS (-) = NEGATIVOS

Mapa 9.- LOCALIZACION DE LAS POBLACIONES DEL ESTADO DE PUEBLA, DE DONDE SE ESTUDIARON 241 SUEROS COLECTADOS EN 1980, 1981 Y 1983, EN EL ANALISIS RETROSPECTIVO (1972-1986) CONTRA EL *Paramyxovirus porcino* LPM.



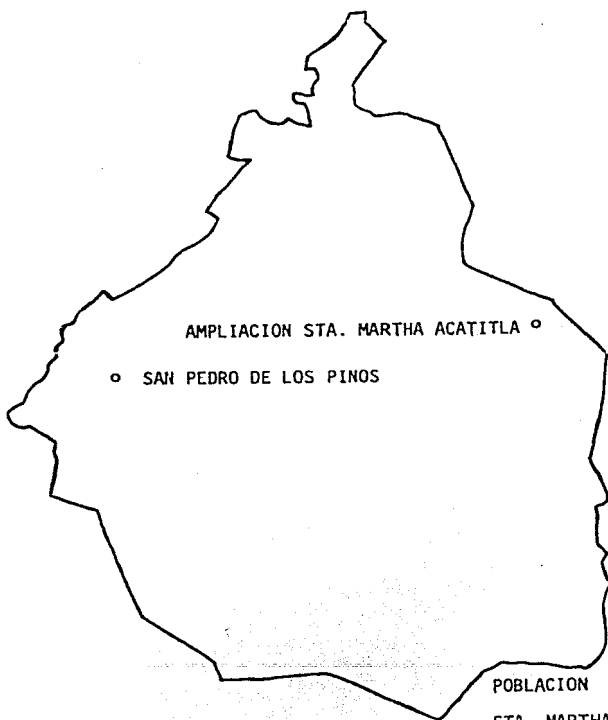
(+) = POSITIVOS S = SOSPECHOSOS (-) = NEGATIVOS

Mapa 10.- LOCALIZACION DE JIUTEPEC, MOR., DE DONDE SE ESTUDIARON 264 SUEROS COLECTADOS EN 1982 Y 1983, EN EL ANALISIS RETROSPECTIVO (1972-1986) CONTRA EL Paramyxovirus porcino LPM.



(+) = POSITIVOS S = SOSPECHOSOS (-) = NEGATIVOS

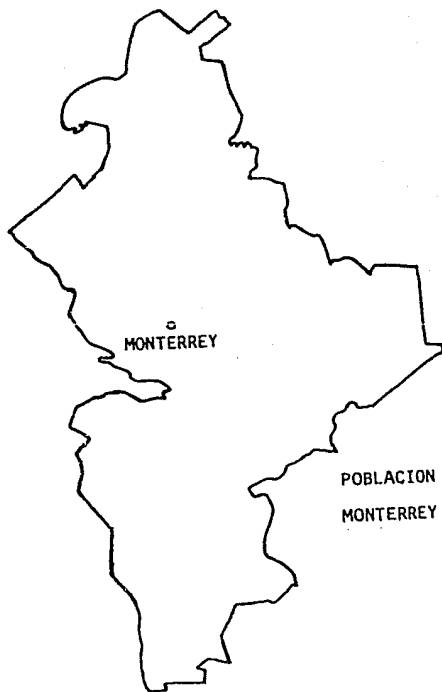
Mapa 11.- LOCALIZACION DE LAS POBLACIONES DEL DISTRITO FEDERAL, DE DONDE SE ESTU
DIARON 6 SUEROS COLECTADOS EN 1978 Y 1980, EN EL ANALISIS RETROSPECTI-
VO (1972-1986) CONTRA EL Paramyxovirus porcino LPM.



DISTRITO FEDERAL

(+) = POSITIVOS S = SOSPECHOSOS (-) = NEGATIVOS

Mapa 12.- LOCALIZACION DE MONTERREY, N. L., DE DONDE SE ESTUDIARON 6 SUEROS COLECTADOS EN 1978, EN EL ANALISIS RETROSPECTIVO (1972-1986) CONTRA EL Parainfluenza virus porcino LPM.

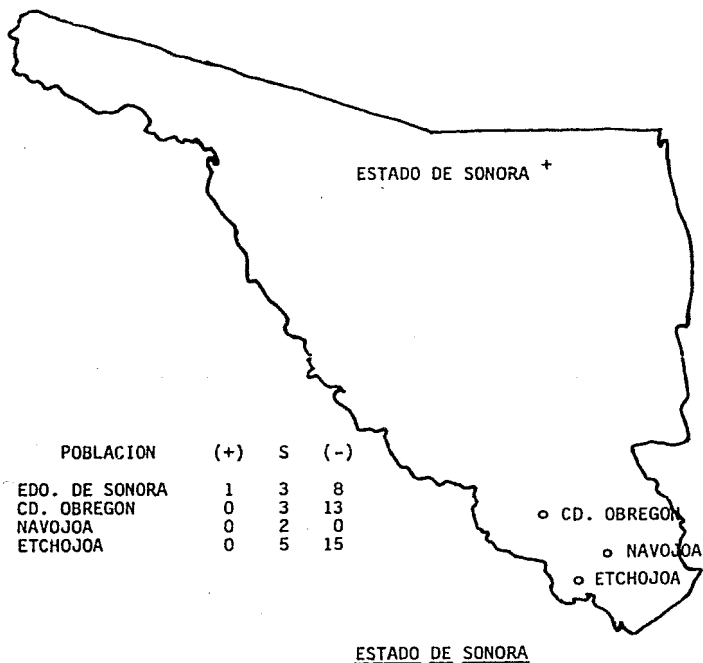


POBLACION	(+)	S	(-)
MONTERREY	0	0	6

ESTADO DE NUEVO LEON

(+) = POSITIVOS S = SOSPECHOSOS (-) = NEGATIVOS

Mapa 13.- LOCALIZACION DE LAS POBLACIONES DEL ESTADO DE SONORA, DE DONDE SE ESTUDIARON 50 SUEROS COLECTADOS EN 1977, 1978 Y 1984, EN EL ANALISIS RETROSPECTIVO (1972-1986) CONTRA EL Paramyxovirus porcino LPM.



+ Algunas de estas muestras fueron colectadas en el Rastro de Tlalnepantla, Edo. de México.

(+) = POSITIVOS S = SOSPECHOSOS (-) = NEGATIVOS

APENDICE

Para comprobar los resultados obtenidos en este estudio, se realizó la prueba de seroneutralización (SN) por la técnica de microtitulación (12), con 33 sueros que fueron seleccionados por mostrar títulos IH de 1:20 a 1:80, además de que fueron colectados antes de 1980, año en el que se diagnosticó por primera vez el síndrome del ojo azul (1, 41). Se escogieron 22 sueros del año 1972, 2 del año -- 1975 y 9 del año 1977. La prueba de SN se realizó dos veces para confirmar las observaciones realizadas.

El mismo antígeno utilizado en la prueba de IH, se tituló con base en el --- efecto citopático (ECP) que produjo en placas de microtitulación de 96 pozos, sembradas con células PK-15; se incubó durante 5 días a 37 C, con atmósfera de 5-10% de CO₂ y ambiente húmedo. Una vez determinado el título del virus por ECP, para - las pruebas de SN se utilizaron 30 unidades formadoras de efecto citopático.

En estas pruebas se observó un fuerte efecto tóxico para las células en las primeras diluciones hechas a los sueros seleccionados y probados; sin embargo al hacer las diluciones del suero la toxicidad disminuyó, pudiendo observarse cierto grado de neutralización en 8 sueros del año 1972 procedentes de Atizapán, Méx. y en 3 sueros del año 1977 procedentes de Texcoco, Méx. Al repetir la prueba las observaciones fueron similares, siendo más manifiesta la neutralización en un suero del año 1972.

DISCUSION

Considerando los resultados obtenidos, se sugiere la realización de estudios complementarios tendientes a determinar el título mínimo de anticuerpos IH que debe ser reconocido como específico, para considerar que un cerdo sufrió la infección y/o la enfermedad por el Paramyxovirus porcino LPM.

Refiriéndose a otros Paramyxovirus, se han observado títulos IH tan altos como 1:40 en los sueros de ganado vacuno, después de una mínima exposición al virus de Parainfluenza-3, la cual no produjo los signos clínicos de la enfermedad. Y -- cuando en el ganado hubo una respuesta clínica, en seguida de la infección, se detectaron títulos IH de 1:320, 1:640 y mayores. Los títulos que están en el rango de 1:10 a 1:40, indican previa exposición al virus de Parainfluenza-3, pero pueden no estar relacionados con una enfermedad reciente. Por otra parte, en el caso de la enfermedad de Newcastle los títulos con valor de 1:20 o mayores, definitivamente indican una previa infección del ave (7).

Por lo que respecta al Paramyxovirus porcino LPM, en la enfermedad experimental, cuando se obtuvo suero en los días 9, 15 y 21 postinoculación, se detectaron títulos IH de 1:16 a 1:128. Esto a partir de dos cerdos aparentemente sanos, de 3 semanas de edad, que fueron inoculados por vía intravenosa e intranasal con 3 ml de la suspensión original de cerebro diluido 1:10 (21). Al examinar el suero coleccionado en la etapa convaleciente, de 20 cerdos naturalmente infectados y de 5 experimentalmente infectados con el Paramyxovirus porcino LPM para determinar la presencia de anticuerpos IH y SN contra el virus LPM, se encontró que estos sueros tuvieron títulos IH de 1:16 a 1:128 y títulos SN de 1:4 a 1:32 (21). Y se sabe que los sueros procedentes de animales con opacidad de la córnea, muestran una tendencia a presentar títulos más altos de anticuerpos IH contra el SOA (13).

Al estudiar por SN algunos de los sueros que resultaron positivos a la IH, se intentó descartar la posible presencia de anticuerpos inespecíficos en los sueros; los cuales pudieran propiciar el que se manifestaran como falsos positivos en las pruebas de IH. Los 33 sueros que fueron seleccionados para hacer la SN, es deseable que sean estudiados mediante alguna otra prueba serológica que pueda corroborar los resultados en forma clara y precisa, sin que sea interferida por la toxicidad presente en estos sueros. Se sugiere la realización de --- pruebas de inmunodifusión.

Es importante mencionar que a partir del año de 1980, la aparición de brotes de cólera porcino empezó a disminuir (5); lo cual coincidió con la detección inicial de brotes de SOA en 1980 (1, 41). Lo que lleva a establecer la posibilidad de que probablemente desde antes de 1980 pudieron haberse presentado casos clínicos de SOA, manifestados por signos nerviosos, que pudieron ser enmascarados y confundidos con otras enfermedades de tipo nervioso, tales como el cólera porcino y la enfermedad de Aujeszky.

Se hace necesaria la realización de estudios epizootiológicos extensos para determinar la distribución de esta enfermedad en todo el territorio nacional, ya que no se conoce la extensión exacta del SOA en el país. Se ha mencionado que en 1982 la enfermedad se diagnosticó en el Estado de México; en 1983 en el Distrito Federal, Nuevo León, Hidalgo, Tlaxcala, Yucatán, Tabasco y Querétaro; y en 1984 en Tamaulipas (26, 28, 39). En cuanto al diagnóstico de la enfermedad en Yucatán y Tabasco en el año de 1983 (26, 28, 39), en diciembre de 1986, se aclaró que -- fueron casos de rastro y que aparentemente provienen del Bajío (29), lo cual con funde la situación. A este respecto, es evidente que los sueros estudiados en es ta tesis no abarcan gran parte del territorio nacional, ya que las áreas muestreadas corresponden básicamente al centro del país: Michoacán, Jalisco, Guanajuato, México, Puebla, Morelos y Distrito Federal. Además de Nuevo León y Sonora. Dando

como resultado aparente, el que la enfermedad se encuentre concentrada en la zona del Bajío y en el centro de la República.

En el caso del Estado de Nuevo León, se debe hacer un muestreo epizootiográfico completo para poder saber si es realmente negativo, en caso de que así resultara la muestra.

Estudios posteriores a 1980 realizados por otros investigadores, indican que la enfermedad si está presente en el Distrito Federal y Jalisco, así como en Nuevo León (26, 28, 39).

Es importante delimitar perfectamente las zonas que tienen SOA, de las que están libres de esta enfermedad, y se debe proceder a establecer medidas tendientes a controlarla y erradicarla, ya que la presencia de esta enfermedad puede ser un fuerte obstáculo en el futuro para la exportación, ya sea de animales en pie o de sus productos. Esto es aplicable para cualquier país al que se quiera exportar ya que al parecer, sólo en México se ha reportado el SOA. Por lo que las medidas de control y/o erradicación de esta enfermedad deben iniciarse de inmediato, antes de que se difunda a otros países, lo cual podría dificultar posteriormente el control y/o erradicación de la misma, por abarcar entonces un área más amplia.

CONCLUSIONES

a) Desde el año de 1972 en los sueros estudiados, hay evidencias de títulos importante de anticuerpos IH contra el Paramyxovirus porcino LPM.

b) En el estudio aquí presentado, se detectaron anticuerpos IH contra el -- Paramyxovirus porcino LPM en el 9.24% de la muestra examinada; esto fue en sueros colectados en los años de 1972, 1974, 1975, 1977, 1978, 1979, 1982, 1983 y 1985. Los cuales procedían de Tehuacán, Pue.; Jiutepec, Mor.; La Piedad, Mich.; Celaya, Gto.; Atizapán, Texcoco, Cuautitlán y Toluca, Méx. y del Estado de Sonora. Los 2 últimos colectados en el Rastro de Tlalnepantla, Edo. de México.

c) Estos 161 sueros que se consideraron positivos, mostraron títulos que variaron de 1:20 a 1:1280.

d) Los títulos más altos detectados (1:1280), correspondieron a 3 sueros de la Piedad, Mich. del año 1985.

e) Aunque al considerar tanto a los sueros positivos como a los sospechosos, se encontraron variaciones de 1:5 a 1:1280, con una media de 1:32.34.

f) Estos resultados indican que evidentemente hay indicios serológicos de -- que el Paramyxovirus porcino LPM ha estado presente desde antes de 1980, en las poblaciones porcinas muestreadas en los Estados de Michoacán, Jalisco, Guanajuato, México y Sonora.

g) Es importante hacer notar que en la muestra del año 1972, se detectaron -- ya títulos importantes de 1:40 y 1:80; lo cual se volvió a detectar en el año de 1977 donde hubo 3 sueros con título de 1:40. Además de detectarse títulos de 1:20 en varias muestras colectadas en años anteriores a 1980.

h) La toxicidad para las células presente en los 33 sueros estudiados mediante SN, evitó evaluar claramente las observaciones.

i) En las poblaciones porcinas muestreadas en los Estados de Michoacán, Guajalajara, México, Puebla, Morelos y Sonora, se encontraron sueros tanto positivos (9.24%), como sospechosos (29.44%) y negativos (60.44%). La muestra procedente - del Distrito Federal de 1978 y 1980, se mostró sospechosa (.22%) y negativa (.11%); así como la de Jalisco de 1978 que fue sospechosa (.17%). La muestra obtenida en el Estado de Nuevo León en 1978, 6 sueros, fue totalmente negativa (.34%).

LITERATURA CITADA

1. Campos M., E., 1981. Síndrome del ojo azul o cerdos zarcos. XVII Convención AMVEC, Ixtapa 81, Gro.
2. Campos M., E.; Calderón S., E. and Solorio. S., 1982. "The blue eye syndrome" Síndrome del ojo azul. 7th IPVS Congress, México, D. F. p 171.
3. Conrath, T. B. Handbook of Microtiter^R Procedures. Cooke Engineering Co., Alexandria, Va, 1972.
4. Correa G., P.; 1982. Pseudorrabia. En: Enfermedades virales de los animales domésticos (monogástricos), volumen 1., 4ª edición, Editorial FH. pp 43-47.
5. Correa G., P.; Coba A., M. A.; Anaya E., A. M., 1987. El control del cólera porcino en México. II Congreso ALVEC, XXII Convención AMVEC, III Encuentro UNPC. Acapulco 1987, pp 107-111.
6. Correa G., P.; Martínez L., A.; Ericsson, A. and Moreno-López, J., 1986. Characterization of a paramyxovirus isolated from the brain of a piglet in Mexico 9th IPVS Congress, Barcelona, Spain. July 15-18. p 205.
7. Cottrel, G. E., 1978. Manual of Standardized Methods for Veterinary Microbiology. First published, 1978 by Cornell University Press, Comstock Publishing - Associates, Ithaca, New York.
8. Dorland's, 1981. Dorland's Illustrated. Medical Dictionary, twenty-sixth Edition; W. B. Saunders Company.
9. Fenner, F. J. y White, D. O., 1978. Virología médica. Primera reimposición La Prensa Médica Mexicana, México, D. F.
10. Gay G., M.; Stephano H., A. y Vergara Ll., M., 1985. Determinación de anticuerpos contra un virus aislado en cerdos afectados con el síndrome del ojo azul en sueros de perros en contacto. XX Reunión Nacional AMVEC 85, Mérida, Yuc. p 69-70.

11. Guillen A., H., 1984. Estudio de un brote de una nueva enfermedad denominada Síndrome de Ojo Azul de los Porcinos. Tesis Profesional, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Guadalajara.

12. Jenney, E. W. and Snyder, M. L., 1981. Microtitration Serologic Methods for Bovine Virology. In: Serologic Microtitration Techniques. APHIS, NVSL, USDA, Ames, Iowa, USA, pp 35-39.

13. Martínez L., A.; Colinas T., A.; Correa G., P.; Ramírez N., R.; Garibay S., M.; Coss, M.; Baez, A. y Coba A., A., 1987 b. Determinación de anticuerpos - inhibidores de la hemaglutinación contra el Paramyxovirus LPM en cerdos con signos nerviosos, con y sin opacidad de la córnea. II Congreso ALVEC, XXII Convención AMVEC, III Encuentro UNPC. Acapulco 1987. pp 76-78.

14. Martínez L., A.; Correa G., P.; Fajardo M., R. y Garibay, M., 1985 a. - Aislamiento y estudio de un virus porcino parecido a los paramixovirus. Encuentro sobre enfermedades infecciosas del cerdo, AMVEC, México, D. F. Editado por - P. Correa G. y A. Morilla G. Centro Médico Nacional del IMSS, 6 y 7 de mayo. --- pp 15-21.

15. Martínez L., A.; Correa G., P.; Fajardo M., R.; Garibay S., M.; Moreno-López, J.; Ramos R., I. y Rosales E., F., 1985 b. Un virus hemaglutinante similar a los paramixovirus que produce encefalitis y mortalidad en cerdos. Reunión de Investigación Pecuaria en México 1985, México, D. F. p 81.

16. Martínez L., A.; Correa G., P.; Rosales E., F.; Vásquez, C. y Garibay, M., 1986 a. Títulos de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación (IH) contra el Paramyxovirus de La Piedad, Michoacán (LPM) en cerdos de diferentes edades. - 9th IPVS Congress, Barcelona, Spain. July 15-18. p 313.

17. Martínez L., A.; Correa G., P.; Rosales E., F.; Vásquez C.; Garibay M., S., 1987 a. Curva de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación contra el Paramyxovirus porcino de La Piedad, Michoacán, en cerdos de una granja de ciclo --

completo. Tec. Pec. Mex. Vol. 25, No. 2, pp 163-167.

18. Martínez L., A.; Correa G., P.; Rosales E., F.; Vásquez P., C. y Garibay S., M., 1986 b. Respuesta de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación (IH) - contra el Paramixovirus porcino de La Piedad, Mich. (LPM) en cerdos de diferentes edades. "XXI Reunión Nacional de AMVEC 86". Puebla-Tlaxcala. Agosto. pp 101-104.

19. Matthews, R. E. F., 1982. Classification and Nomenclature of Viruses. -- Fourth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Intervirology The Journal of the Virology Division, International Union of Microbiological Societies. 17/1-3/82. Released July 1982, pp 104-105.

20. Mohanty, S. B. y Dutta, S. K., 1984. Virología Veterinaria. Primera edición, Nueva Editorial Interamericana, México, D. F.

21. Moreno-López, J.; Correa-Girón, P.; Martínez, A. and Ericsson, A., 1986. Characterization of a Paramyxovirus isolated from the brain of a piglet in Mexico. Arch. Virol. 91:221-231.

22. Ramírez T., C. and Stephano H., A., 1982. Histological central nervous - system lesions produced by an hemagglutinating virus in naturally infected piglets. 7th IPVS Congress, México, D. F. p 154.

23. Rose, N. R. and Friedman, H., 1980. Manual of clinical immunology. Second edition. American Society for Microbiology, Washington, D. C. p 16.

24. Stephano, A.; Doporto, J. M. y Gay, M., 1986 c. Estudio epidemiológico - en dos granjas afectadas por el Síndrome del Ojo Azul. 9th IPVS Congress, Barcelona, Spain. July 15-18, p 456.

25. Stephano, A. and Gay, M., 1984 c. Experimental studies on a new viral -- syndrome in pigs called " blue eye", characterized by encephalitis and corneal -- opacity. 8th IPVS Congress, Ghent, Belgium, August 27-31. p 71.

26. Stephano, A. y Gay, M., 1985 b. Síndrome del ojo azul en cerdos. Encuentro sobre enfermedades infecciosas del cerdo, AMVEC; Editado por P. Correa G. y

A. Morilla G.; Centro Médico Nacional del IMSS. México, D. F., 6 y 7 de mayo, p 1-13.

27. Stephano, A. y Gay, M., 1985 c. Síndrome del ojo azul en cerdos. Síntesis Porcina. Vol. 4, No. 5, mayo, pp 42-49.

28. Stephano, A. y Gay, M., 1985 d. Síndrome del ojo azul en cerdos (II). -- Síntesis Porcina. Vol. 4, No. 6, junio, pp 9-14.

29. Stephano, A. y Gay, M., 1986 e. Encefalitis, falla reproductiva y opacidad córnea, ojo azul. Síntesis Porcina, Vol. 5, No. 12, diciembre, pp 26-39.

30. Stephano H., A., 1985 a. Brotes de encefalitis en cerdos de engorda. Síntesis Porcina. Vol. 4, No. 2, febrero, pp 9-12.

31. Stephano H., A.; Doporto D., J. M. y Gay G., M., 1985 f. Estudio epidemiológico en dos granjas afectadas por el síndrome del ojo azul. XX Reunión Nacional AMVEC. Mérida, Yuc., del 10 al 13 de julio, pp 79-82.

32. Stephano H., A.; Doporto D., J. M. y Gay G., M., 1985 g. Estudio epidemiológico en dos granjas porcinas afectadas por el síndrome del ojo azul, Reunión de Investigación Pecuaria en México 1985, México, D. F., p 93.

33. Stephano H., A. y Gay G., M., 1983. El síndrome del "ojo azul" estudio experimental. Reunión de Investigación Pecuaria en México 1983, México, D. F., -- pp 523-528.

34. Stephano H., A. y Gay, M., 1984 a. Efecto del virus del ojo azul en la reproducción de la cerda. II Congreso Nacional AMVEC, Mazatlán, Sin., pp 83-85.

35. Stephano H., A. y Gay G., M., 1984 d. Síndrome del ojo azul en cerdos en México. Reunión de Investigación Pecuaria en México 1984. México, D. F., p 138.

36. Stephano H., A. y Gay G., M., 1985 h. El síndrome del ojo azul en cerdos de granjas engordadoras del Bajío. Reunión de Investigación Pecuaria en México -- 1985, México, D. F., p 94.

37. Stephano H., A. y Gay G., M., 1985 e. El síndrome del ojo azul en cerdos en grajas engordadoras. XX Reunión Nacional AMVEC, Mérida, Yuc., del 10 al 13 de julio. pp 71-74.

38. Stephano H., A. y Gay G., M., 1986 d. Análisis de cepas del virus del --síndrome del ojo azul aisladas de 12 brotes diferentes de encefalitis y opacidad de la córnea en cerdos. Reunión de Investigación Pecuaria en México 1986, México, D. F., p 163.

39. Stephano H., A. y Gay G., M., 1986 a. El síndrome del ojo azul. Una nueva enfermedad en cerdos asociada a un paramixovirus. Vet. Mex., 17:2, pp 120-122.

40. Stephano H., A.; Gay G., M. and Kreese, J., 1986 b. Properties of a para mixovirus associated to a new syndrome (blue eye syndrome) characterized by encephalitis, reproductive failure and corneal opacity. 9th IPVS Congress, Barcelona, Spain. July 15-18, p 455.

41. Stephano H., A.; Gay G., M.; Ramírez T., C. y Maqueda A., J. J., 1981. - Estudio de un brote de encefalitis en lechones por un virus hemaglutinante. XVII Convención AMVEC, Ixtapa 81, Gro. del 1 al 5 de julio de 1981.

42. Stephano H., A.; Gay G., M.; Ramírez T., C. and Maqueda A., J., 1982. -- An outbreak of encephalitis in piglets produced by an hemagglutinating virus. 7th IPVS Congress, México, D. F., p 153.

43. Stephano H., A.; Rodríguez, H. y Peralta R., C., 1984 b. Análisis de un brote de angiopatía cerebroespinal (Enfermedad del Edema) y Síndrome del Ojo ---Azul en cerdos de una granja engordadora. II Congreso Nacional AMVEC, Mazatlán, Sin., pp 102-104.

44. Stites, D. P.; Stobo, J. D.; Fudenberg, H. H. y Wells, J. V., 1985. In--munología básica y clínica. Quinta edición, Editorial El Manual Moderno, México, D. F., pp 49-51.

45. Weir, D. M., 1967. Handbook of experimental immunology. First published. Blackwell Scientific Publications, Oxford and Edinburgh.