



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

INOCULACION EXPERIMENTAL DEL PARAMYXOVIRUS
DE OJO AZUL, EN RATAS DE LABORATORIO (CEPA WISTAR),
VIA INTRAMUSCULAR.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
CUETERO REYES SOCORRO

ASESORES:
M.V.Z. HUMBERTO RAMIREZ MENDOZA
M.V.Z. ROSALBA CARREON NAPOLES
M.V.Z. JAIME CAMPUZANO GRANADOS



MEXICO, D. F.

1993.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CONTENIDO

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
HIPOTESIS Y OBJETIVOS.....	5
MATERIAL Y METODOS.....	6
RESULTADOS.....	10
CUADROS.....	12
DISCUSION.....	18
CONCLUSION.....	19
LITERATURA CITADA.....	20

RESUMEN

CUETERO REYES SOCORRO. Inoculación experimental del paramyxovirus de ojo azul en ratas de laboratorio (Cepa Wistar) , vía Intramuscular. Bajo la asesoría de los MVZ Humberto Ramírez Mendoza , MVZ Rosalba Carroón Nápoles y MVZ Jaime Campuzano Granados.

Se utilizaron un total de 22 ratas de los cuales 2 animales son testigo y 20 ratas fueron inoculadas con un 1 ml del paramyxovirus del Ojo Azul (POA) con un título de $10^{5.55}$ DICC (Dosis infectante en cultivo celular) /ml, por vía intramuscular.

El día 0 se tomaron muestras sanguíneas por vía intracardiaca de 2 animales testigo y posteriormente estos se sacrificaron. Los días 1,3,5,7,10,15,20,25,30,35 postinoculación (PI) se tomaron muestras de sangre para la detección serológica de anticuerpos contra POA utilizando la técnica de Inhibición de la Hemoaglutinación (IHA), Sueroneutralización (SN), para la realización de Biometrías Hemáticas (BH) y la obtención de la Capa Flogística para aislamiento viral, además se obtuvieron muestras de órganos (encefalo, pulmón y tonsila) para intentar el aislamiento en tres líneas celulares (MDBK, PK-15, BT) e inmunofluorescencias en cultivo celular (IFCC); de estas mismas muestras se hicieron estudios histopatológicos (HP). Se recolectaron durante los 35 días heces y orina para el aislamiento e IFCC.

En los resultados de las pruebas serológicas para IHA y SN se detectaron anticuerpos a partir del décimo día PI en ambas pruebas con títulos de 1:4 hasta 1:256 para SN y de 1: 8 hasta 1:64 para IHA. En el aislamiento viral de órganos, capas flogísticas, heces y orina se pudo aislar el virus durante todo el período de experimentación en las tres líneas celulares, coincidiendo estos resultados con las IFCC; las BH mostraron variación en los valores de Leucocitos, Neutrófilos, Linfocitos y Monocitos. No hubo presencia de lesiones significativas tanto macro como microscópicas.

INTRODUCCION

Las enfermedades que afectan al sistema nervioso central de los cerdos han estado presentes desde que se inició la porcicultura cobrando importancia en los últimos años (5).

La enfermedad de Ojo Azul se ha reportado sólo en México, la produce un Paramyxovirus (POA), que se replica con facilidad en cultivos primarios de células de riñón de cerdo, tiroides de bovino, y en líneas celulares tales como: riñón de cerdo (PK-15), testículo de cerdo (ST), mono (Vero Maru), riñón de gato (CK), embrión de bovino (BEK), riñón de hámster (BIK 21) y dermis equina (ED) (3,14,16,18,19).

También crece en abundancia en embrión de pollo de 6 días inoculando en cavidad alantoidea con mortalidad del 50% de los embriones con un periodo de incubación de 72 hrs (14,16,18).

En monoestratos de riñón primario de cerdo y células PK-15, produce el efecto citopático con formación de sincitios caracterizados por fusión de 3 a 20 núcleos en 24 a 48 hrs postinoculación (3,16,18), tiene la capacidad de hemoaglutinar eritrocitos de una gran variedad de mamíferos y aves. El virus muestra sensibilidad a los solventes de lípidos (éter y cloroformo), tiene resistencia a la actinomicina D, indicando presencia de RNA en su genoma; y se inactiva a 56 °C después de 4 hrs (3,16,18,20).

La única especie donde se ha confirmado la enfermedad natural es el cerdo (3,11,16,18).

El POA ocasiona en lechones de 1 a 15 días de edad un cuadro nervioso progresivo, presencia de opacidad corneal uni o bilateral en un 10% y muerte. En cerdos de más de 30 días el cuadro nervioso es raro y la opacidad se presenta 1 al 4% de los animales infectados (3,16,19,20).

En animales reproductores (y cerdas en maternidad) se observa incremento en el número de hembras repetidoras, lo que ocasiona una disminución del 15-20% en la fertilidad de la pira, incremento en el número de lechones nacidos muertos (2-24%) y fetos momificados (1-15%). Se afectan entre el 20 y 65% de las camadas nacidas durante el brote

con una morbilidad de 20 a 50% y mortalidad de 87 a 99%. Este efecto en la maternidad dura de 2 a 9 semanas (3,15,16,19).

En sementales se presenta epididimitis y orquitis con atrofia testicular subsecuente (2).

En granjas engordadoras la morbilidad va del 1 al 20% y la mortalidad es menor a 1%, pero también se han presentado brotes de encefalitis (de etiología múltiple) hasta con 30% de mortalidad (16,18,20).

La ruta natural de infección es la nasofaringe, el sitio inicial de replicación es la mucosa nasal y tonsila pasando al sistema nervioso central y pulmón. La opacidad corneal es debido probablemente a un fenómeno de hipersensibilidad tipo III (15). Durante la viremia, el virus llega al 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 (15,17,18,19).

Lesiones macroscópicas: presentan opacidad y edema corneal uni o bilateral, congestión cerebral y aumento del líquido cefalorraquídeo, neumonía que afecta los bordes centrales de los lóbulos craneales. Otros cambios son acumulación de fluido con finas bandas de fibrina en cavidad abdominal, distensión gástrica con leche, distensión por orina en vejiga y atrofia serosa de grasa coronaria.

Lesiones microscópicas: hay uveítis, infiltración de células mononucleares en el ángulo irido corneal, iris y nervio óptico; macrófagos y neutrófilos en la membrana de Descemet de la córnea y ángulo córneoescleral y en el iridocorneal. Meningoencefalitis no supurativa, gliosis focal o difusa, infiltración linfocitaria perivascular, necrosis neuronal, eritrofagocitosis así como neumonía intersticial caracterizado por engrosamiento del septo alveolar debido a células mononucleares (4,15,17,18,19).

El diagnóstico se basa en los signos clínicos y pruebas específicas como: aislamiento viral (encefalo, pulmón y tonsila); inmunofluorescencia (IF) y serología como inmunoenzimática, sueroneutralización (SN) e inhibición de la hemoaglutinación (IHA) (4,10,15,17,18,19).

Experimentalmente se han infectado el ratón y el conejo adulto, este es resistente a la infección intramuscular y no presenta signos de la enfermedad, sin embargo hay desarrollo de anticuerpos.

Humanos en contacto con el virus son negativos serológicamente y perros que consumieron carne de cerdos infectados no desarrollaron signos ni anticuerpos (3,14,18,19).

Por otro lado el pecari siendo de la misma familia del cerdo doméstico se ha demostrado que es susceptible al POA (6); mientras que el gato tiene la capacidad de seroconvertir ante la inoculación del virus (1).

Así mismo se han detectado anticuerpos en ratas capturadas dentro de las mismas granjas, con títulos de 1:20 en la prueba de inhibición de la hemoaglutinación, en muestras procedentes de Coacalco, México (13).

En otro trabajo se capturaron 25 ratas de una granja ubicada en San Juan de los Lagos, Jalisco, por medio de la prueba de la inhibición de la hemoaglutinación nueve sueros tuvieron un título de anticuerpos de 1:12 y dos con 1:16; los 14 restantes no mostraron ninguna reacción, en las inmunofluorescencias directas y las suero-neutralizaciones resultaron negativas (12).

Aún dentro de la epizootiología quedan muchas dudas sobre el papel que juegan otras especies en la transmisión del Paramyxovirus de Ojo Azul, por lo que para este estudio se ha seleccionado a la rata de laboratorio, para observar que sucede bajo condiciones controladas.

HIPOTESIS

La rata Wistar puede ser susceptible a la infección por Paramyxovirus de Ojo Azul (POA), inoculando el virus por la vía intramuscular (IM), con la consecuente seroconversión y la posible eliminación del virus en heces y orina.

OBJETIVOS

- 1.- Determinar si la rata cepa Wistar, es capaz de infectarse y desarrollar signos de enfermedad a través de la inoculación intramuscular del POA.
- 2.- Determinar si la rata, es capaz de seroconvertir ante la inoculación del POA.
- 3.- Determinar la posible eliminación del POA a través de heces y orina en la rata.
- 4.- Determinar si el POA, es capaz de causar alteraciones tanto macro como microscópicas y cambios en la biometría hemática.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron un total de 22 ratas, cepa Wistar, machos, entre los 2 a 3 meses de edad y el peso entre los 200 a 250g.

Los animales fueron donados de la Facultad de Medicina, en Ciudad Universitaria y se colocaron en una jaula. Desde su llegada y durante el experimento se mantuvieron dentro de un cuarto aislado, donde se les dió un periodo de adaptación de 3 días antes de la experimentación.

Para su manejo se les administró como tranquilizante el Hidrocloruro de Xilacina, vía intramuscular, a dosis de 3 mg/Kg de peso y el anestésico Cloridrato de Ketamina, vía intramuscular, a dosis de 40 mg/Kg de peso vivo (7).

El día 0 bajo anestesia general se tomaron muestras sanguíneas por vía intracardiaca de 2 animales testigo y se sacrificaron por desnucamiento, a los cuales se les extrajo el encéfalo, pulmón y tonsila, depositándose en cajas de petri estériles. Este mismo día fueron inoculadas 20 ratas intramuscularmente con 1 ml de antígeno de Ojo Azul con un título de $10^{5.55}$ DICC (Dosis infectantes en cultivo celular) /ml.

Los días 1,3,5,7,10,15,20,25,30,35 postinoculación (PI), se tomaron al azar 2 ratas, de las cuales se obtuvieron muestras sanguíneas e inmediatamente se sacrificaron extrayendo los órganos antes mencionados. Así mismo durante todo este periodo se recolectaron las heces y orinas y se almacenaron en refrigeración a -20°C , para aislamiento viral.

PREPARACION DE SUEROS

Se emplearon tubos de vacutainer sin anticoagulante, para la obtención de sueros, estos fueron centrifugados a 1500 rpm durante 10 min., se inactivaron a 56°C durante 30 min., para sueroneutralización (SN), estos mismos sueros, se absorbieron con caolín y eritrocitos de cuye al 5%, previamente lavados en solución amortiguadora de fosfato (PBS) con pH 7.2 y se centrifugaron para la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (IHA).

TECNICA DE INHIBICION DE LA HEMOAGLUTINACION

PREPARACION DEL ANTIGENO

El antígeno utilizado en la prueba de IHA fue la cepa PAC LV1 pase 4, propagada en células PK-15, congelada y descongelada 2 veces para la liberación del virus de la célula; se tituló por la técnica de hemoaglutinación, utilizando como diluyente PBS, las diluciones fueron de 1:2 a 1:256, el volumen inicial fue de 0.05 ml y el final de 0.05, después se agregaron 0.05 ml de eritrocitos de cuye al 0.75%, en cada pozo. El antígeno se utilizó ajustando el título a 8 unidades hemoaglutinantes (UHA).

TECNICA DE IHA

En la placa se colocaron 0.05 ml de PBS en todos los pozos, y 0.05 ml del suero problema en el primer pozo, se diluyó con la multipipeta y se colocaron 0.05 ml del antígeno en todos los pozos, se dejaron 30 min., a temperatura ambiente y se agregó 0.05 ml de suspensión de eritrocitos de cuye 0.75% a todos los pozos. Se realizaron diluciones de 1:8 a 1:1024.

TECNICA DE SUERONEUTRALIZACION

PREPARACION DEL ANTIGENO

Se utilizaron 300 DICC/0.050 ml.

Para determinar la concentración del virus se realizaron diluciones decuples del virus original, utilizando como diluyente el medio esencial de EAQLE, en una dilución de 10^{-1} a 10^{-8} .

La titulación del virus se hizo en microplacas de 96 pozos fondo plano*, se colocan 0.05 ml de virus por pozo, a una concentración de células PK-15 de 100.000/ml.

Para determinar el título del virus se utiliza el método de Karber (9).

* NUNC

TECNICA DE SN

En una placa limpia y esterilizada se colocan 0.05 ml de sol. de Hank's en todos los pozos y 0.05 ml del suero problema (en la primera hilera) el cual se diluyó a 0.05 ml con la multipipeta, se agregó el virus 0.05 ml en todos los pozos, e incubó a una hora y se transfirió todo a la placa que contiene el monoestrato.

AISLAMIENTO VIRAL

CAPAS FLOGISTICA

Se utilizaron tubos de vacutainer con anticoagulantes, para la obtención de sangre, en la misma proporción se le agrego el Histopaque*, en forma estéril, centrifugando a 2000 rpm durante 30 min., al obtenerse la capa flogística está fue colocada en un frasco estéril con solución de Hank's.

ORGANOS

Se tomo una porción de encéfalo, pulmón y tonsila, posteriormente estos fueron macerados en sol. de Hank's se recolectó el inóculo en tubos y se centrifugó a 3000 rpm durante 30 min., se filtró por membranas de 1.2, 0.45 y 0.22 micrómetros en forma estéril.

HECES Y ORINA

En heces se realizó el mismo procedimiento descrito en órganos y en orina se le agrego sol. de Hank's, se centrifugó y se filtró.

Una vez obtenidos los inóculos antes mencionados, se prepararon tubos de Leighton previamente lavados y esterilizados con un monoestrato de la línea celular de riñón de bovino (MDRK), línea celular de riñón de cerdo (PK-15) y la línea celular de cornete de bovino (BT), por cada muestra, en cada uno se le colocó 0.2 ml de inóculo más 1 ml de sol. de Hank's. A las 72 hrs de un primer y segundo paso, se obtuvo el sobrenadante para realizar hemaglutinaciones (HA), empleando eritrocitos de bovino al 0.5%.

De las muestras positivas a la HA se tomaron 0.2 ml del sobrenadante para inocular nuevamente tubos de Leighton con una laminilla en el interior de la cámara, con un

* SIGMA

monocultivo de la línea celular de riñón de cerdo (PK-15) para inmunofluorescencia en cultivo celular (I²CC), a las 72 y 96 hrs se sacaron las laminillas y se fijaron sumergiéndolas en acetona al 10% durante 10 min., en el refrigerador, posteriormente se colocaron en una cámara húmeda y se les agregó el conjugado específico de POA, se lavaron y se fijaron con glicerina buferada.

BIOMETRIAS HEMATICAS

La sangre fue tomada en tubos estériles de vacutainer con anticoagulante (EDTA), se remitió al laboratorio clínico, con el fin de determinar cambios en los valores sanguíneos.

NECROPSIA

Se realizó el examen macroscópico posteriormente se recolecto ojos, hígado , riñón, bazo, intestino, testículo y una parte de encéfalo, pulmón y tonsila en un frasco con formalol al 10% para su estudio microscópico.

RESULTADOS

PRUEBAS SEROLOGICAS

Al evaluar los niveles de anticuerpos en las ratas a través de SN e IHA se detectaron estos a partir del décimo día postinoculación (PI) en ambas pruebas, fluctuando desde 1:4 hasta 1:256 para SN y desde 1:8 hasta 1:64 para IHA (ver cuadro 1)

CAPAS FLOGISTICAS

No se contó con las capas flogísticas del día 0 al 7, porque no se contaban con los reactivos disponibles en el momento de las primeras tomas de muestras, sin embargo del día 10 al 35, en el primer pase hubo hemoaglutinaciones (HA) a partir del sobrenadante de las líneas celulares PK-15 y BT, para comprobar esto se realizó un segundo pase presentando HA en las MDBK y BT sobre los monoestratos inoculados, coincidiendo estos resultados con las fluorescencias (ver cuadro 2).

ORGANOS

Al inocular monoestratos celulares (MDBK, PK-15, BT) a partir de macerados de encéfalo, pulmón y tonsila, hubo HA en las tres líneas celulares, pero en menor número de muestras, sin embargo en el segundo pase sólo se presentó en células MDBK entre los días 20,25,30 PI y en células BT en los días 5,10,30. Para verificar esto, se realizaron IFCC, resultando positivos durante todo el período de la experimentación (ver cuadro 3).

HECES

Se inocularon las heces de las ratas colectadas durante los 35 días, en tres líneas celulares MDBK, PK-15, BT, de los cuales se observó HA a partir de los sobrenadantes de los monoestratos tomados a las 72 hrs PI durante toda la fase de experimentación. Para corroborar la presencia del virus, se hizo un segundo pase de todas las muestras, utilizando las tres líneas celulares, en este caso siguió existiendo HA, pero en un menor número de muestras, sin embargo ésta se presentó en todo el período experimental.

Para confirmar los resultados obtenidos se realizaron inmunofluorescencias a partir de las muestras positivas y se encontró que está fue también positivo a lo largo del experimento (ver cuadro 4).

ORINA

Se inocularon las muestras de orina en tres diferentes monoestratos celulares (MDBK, PK-15, BT) a partir de estos se realizó HA a las 72 hrs en las cuales fueron positivas las tres líneas celulares durante todo el período experimental y fue más evidente en la línea celular BT. Para confirmar este comportamiento se hizo un segundo paso, pero nada más de los primeros 12 días aparecieron positivos las BT y de los días 15 al 35 las células resultaron contaminadas (ver cuadro 5).

BIOMETRIAS HEMATICAS

En las BH mostraron variación en los valores de Leucocitos, Neutrófilos, Linfocitos entre los días 10 al 20 y en Monocitos los días 10 y 15, aunque no se pueden precisar estos, debido al poco número de animales testigo tomados durante el experimento (ver cuadro 6).

NECROPSIA

En cuanto a lesiones en ninguna de las ratas hubo cambios significativos tanto macro como microscópicas.

CUADRO 1. RESULTADOS SEROLOGICOS.

DIA DE SACRIFICIO	No. DE RATA	SN	IHA
0	1*		
	2*		
1	3		
	4		
3	5		
	6		
5	7		
	8		
7	9		
	10		
10	11	1:4	1:8
	12	1:8	
15	13	1:16	1:16
	14	1:4	
20	15	1:32	1:8
	16	1:8	1:8
25	17	1:8	
	18	1:32	1:32
30	19	1:256	1:64
	20	1:8	
35	21	1:32	1:8
	22	1:32	1:16

SN= Suero neutralización

IHA= Inhibición de la Hemoaglutinación

* Las ratas 1 y 2 corresponden a los animales testigo

CUADRO 2. CULTIVO CELULAR DE CAPAS FLOGISTICAS

DIA DE SACRIFICIO	No. DE RATA	HA 1er. PASE		HA 2o. PASE			IFCC PK-15	
		MDBK	PK-15 BT	MDBK	PK-15	BT	72	96 Hrs.
0	1-2*							
1	3-4							
3	5-6							
5	7-8							
7	9-10							
10	11-12		+ +	+		+		+
15	13-14		+ +	+		+		+
20	15-16		+ +			+	+	
25	17-18						+	
30	19-20					+		+
35	21-22					+		+

HA = Hemaglutinaciones empleando eritrocitos de bovino al 0.5%

MDBK = Línea celular de riñón de bovino

PK-15 = Línea celular de riñón de cerdo

BT = Línea de corneo de bovino

IFCC = Inmunofluorescencia en cultivo celular

* Las ratas 1 y 2 corresponden a los animales testigo

**CUADRO 3. CULTIVO CELULAR DE MACERADOS DE ORGANOS
(ENCEFALO, PULMON, Y TONSILA)**

DIA DE SACRIFICIO	No. DE RATA	HA 1er. PASE		HA 2o. PASE		IFCC PK-15	
		MDBK	PK-15 BT	MDBK	PK-15 BT	72	96 Hrs.
0	1-2*						
1	3-4		+ +				+
3	5-6	+					+
5	7-8				+		+
7	9-10						
10	11-12						+
15	13-14						+
20	15-16				+		+
25	17-18	+			+		
30	19-20		+		+		+
35	21-22		+				+

* Las ratas 1 y 2 corresponden a los animales testigo

CUADRO 4. CULTIVO CELULAR DE HECES

No. DE MUESTRA DPI	HA 1er. PASE			HA 2o. PASE			IFCC PK-15	
	MDBK	PK-15	BT	MDBK	PK-15	BT	72	96 Hrs
1		+						
2		+					+	+
3								
4								
5								
6								
7		+	+					
8						+		
9								
10								
11								
12		+	+	+				
13								
14								
15		+	+					
16		+	+	+			+	
17								
18			+					
19						+		
20								
21						+		
22		+						+
23		+	+	+				
24		+						
25							+	
26								
27								
28					+			
29								
30		+					+	+
31		+						+
32					+			
33		+				+		
34								
35								

DPI - Día postinoculación

* Las muestras de los animales testigos no se incluyeron en el cuadro, sin embargo estos resultaron negativos

CUADRO 5. CULTIVO CELULAR DE ORINA

No. DE MUESTRA DPI	HA 1er. PASE		HA 2o. PASE		IFCC PK-15	
	MDBK	PK-15 BT	MDBK	PK-15 BT	72	96 Hrs
1		+			+	+
2					+	+
3					+	+
4				+	+	+
5					+	+
6		+		+		
7				+		
8						
9				+		
10				+		
11						
12				+		
13						
14	+			+		
15	+			+	+	+
16				+	+	+
17				+	+	+
18		+		+		
19		+				
20		+		+		+
21		+		+		+
22						+
23						+
24						
25		+		+		
26		+				
27						
28					+	
29				+	+	
30		+		+	+	
31						
32						
33						
34						
35						

DPI = Día postinoculación

* Las muestras de los animales testigos no se incluyeron en el cuadro, sin embargo estos resultaron negativos.

CUADRO 6. RESULTADOS DE LAS BIOMETRIAS HEMATICAS

D. S.	No. DE RATA	Ht (%)	Hb (g/dl)	Pp (g/dl)	LEUCOCITOS (mm ³)	NEUTROFILOS (mm ³)	BANDAS (mm ³)	LINFOCITOS (mm ³)	MONOCITOS (mm ³)	EOSINOFILOS (mm ³)
0	1*	40	17.2	7.5	6700	1273		5293	134	
0	2*	46.5	18.2	7.3	6000	600		5100	240	60
3	5	37	15.6	7.1	13700	1918	137	10686	822	137
3	6	40.5	15.2	7	8700	1392		6786	435	87
5	7	37	16.4	7.1	8000	1200		6560	240	
5	8	38	16	6.9	12720	4462.5		7905	386.5	
7	9	31	12.4	7	9000	720	540	6750	810	180
7	10	37	16.4	7	11150	1672.5	111.5	8585.5	669	111.5
10	12	36	13.4	6.8	3700	518		3145	37	
15	13	39	18.2	7	2400	552		1824	24	
15	14	39.5	16.8	7	3400	204		2856	340	
20	15	36	15.2	8	7700	385		7161	77	77
20	16	39.5	15	7.2	11850	948		10428	355.5	118.5
25	17	40.5	13	7	5700	855	114	4389	342	
25	18	40.5	14.6	7.6	6500	1300		5132	65	

D.S. = Día de sacrificio

* Las ratas 1 y 2 corresponden a los animales testigo

DISCUSION

Al evaluar los niveles de anticuerpos en las ratas a través de SN e IHA se detectaron estos a partir del décimo día PI en ambas pruebas dando resultados desde 1:4 hasta 1:256 para SN y desde 1:8 hasta 1:64 para IHA. Esto implica que el virus se multiplica en la rata y estimula la producción de la respuesta inmune humoral. Entre los días 25 y 30 PI se detectaron los niveles más altos, esto corresponde con lo que se esperaba ya que la vía de inoculación utilizada genera este tipo de respuesta, además este es el procedimiento para lograr sueros hiperinmunes en especies heterólogas, sin embargo no es la vía natural en condiciones de campo.

De las capas flogísticas obtenidas de los días 10 al 35, aparecieron HIA a partir de sobrenadantes de los monoestratos inoculados en el primer y segundo pase, al igual resultaron positivas las IFCC, esto comprueba que el virus se encuentra circulando en la sangre durante todo este período experimental.

Considerando que el virus se replica en encéfalo, pulmón y tonsila en el cerdo, se intentó detectar el POA a través del aislamiento viral de un macerado de estos tres órganos en las tres líneas celulares, encontrándose HA en el primer y segundo pase, en base a estos resultados se realizaron IFCC apareciendo los mismos resultados.

Al inocular las heces y orinas de las ratas colectadas durante los 35 días, en el primer pase se observaron más HA en las tres líneas celulares, pero en el segundo pase en heces aparecieron HA pero en un menor número de muestras; la disminución de las HA es atribuible a que en el primer pase existe la presencia de HA inespecíficas, sin embargo en la IFCC resultaron positivas. En orina en el segundo pase sólo se presentaron HA en BT del día 4 al 12, de los días 15 al 35 no se pudo comprobar las HA.

El no encontrar ninguna lesión macro ni microscópica, es factible a la situación, puesto que el cerdo es la única especie donde se ha confirmado la enfermedad y comprueba la alta especificidad del virus

CONCLUSION

Las ratas tienen la capacidad de seroconvertir a la inoculación intramuscular del POA, así como el aislamiento del virus en heces, orina, órganos, además de capas flogísticas, sin que estos animales presenten signos ni lesiones característicos de la enfermedad.

En base a los resultados obtenidos se recomienda volver a inocular nuevamente ratas de laboratorio y obtener las mismas muestras a partir del día 35, con el propósito de determinar cuando deja de eliminar el virus la rata.

ESTA TESIS NO DEBE
SER DE LA BIBLIOTECA

LITERATURA CITADA

- 1.- Arellanes, A.E.: Inoculación experimental del paramixovirus de ojo azul en el gato doméstico (Felis catus). Tesis de Licenciatura, Fac. de Med.Vet. y Zoot. UNAM, México, D.F. (1992)
- 2.- Campos, H.R. y Carbajal, S.M.: Trastornos reproductivos en los sementales de una granja porcina de ciclo completo ante un brote de ojo azul. Memorias de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. Morelia, Mich. 1989, 62-64. Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, Morelia, Mich. (1989)
- 3.- Carreón, N.R.: Más sobre la enfermedad de ojo azul (1). Síntesis Porcina 9: 60-62 (1990)
- 4.- Carreón, N.R.: Más sobre la enfermedad de ojo azul (2). Síntesis Porcina 10: 34-36 (1990)
- 5.- Carreón, N.R. y Fuentes, R.M.: Frecuencia de anticuerpos contra el paramixovirus del ojo azul en cerdos del antiplano y norte de México. Vet. Méx. 22:177-179 (1991)
- 6.- Flores, J.J.: Inoculación experimental del paramixovirus del ojo azul (POA) en el pacari de collar (Dicotyles tajacu). Tesis de Licenciatura. Fac. de Med.Vet. y Zoot. UNAM, México, D.F. (1991)
- 7.- Fox, G.J.; Cohen, J.B. and Loew, M.F.: Laboratory animal medicine. ACADEMIC PRESS. INC. 1984
- 8.- García, F.A.; Rosales, E.F.; Laysoca, B.F. y Padilla, O.R.: Afecciones con signos nerviosos. Síntesis Porcina 9: 30-31 (1990)
- 9.- Hedberg, G.; Reed, R.L. and Snyder, K.T.: Manual the diagnostic virology laboratory. National veterinary Services Laboratories, Ames. Iowa (1989)

- 10.- Hernández, J.P.; Sundquist, A.; Fuentes, M.; Díaz, O.A.; Reyes, L.J.; Moreno, L.J. y Hernández, B.E.: Correlación entre las pruebas de virus neutralización, inhibición de la hemaglutinación y elisa en sueros vacunales y de brote para anticuerpos contra el paramixovirus del síndrome del ojo azul en cerdos. Vet. Méx. 23: 217-222 (1992)
- 11.- Moreno, L.J.; Correa, G.P.; Martínez, A. and Ericsson, A.: Characterization of paramyxovirus isolated from the brain of a piglet in México. Arch. Virol. 91: 221-231 (1986)
- 12.- Ramírez, H.G.; Carreón, N.R. and Ramírez, M.H.: Detección virológica y serológica del paramixovirus del ojo azul en la rata. Memorias de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. Acapulco, Gro. 1992, 10-14. Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, Acapulco, Gro. (1992)
- 13.- Rosales, E.F.; Ramos, I.R.; Sánchez, H.N. y Correa, G.P.: Anticuerpos contra paramixovirus en cerdos y ratas. Síntesis Porcina 9: 36-37 (1990)
- 14.- Rosales, E.F. y Correa, G.P.: El síndrome del ojo azul (1). Avanc. en Med. Vet. 9:99-103 (1990)
- 15.- Rosales, E.F. y Correa, G.P.: El síndrome del ojo azul (2). Avanc. en Med. Vet. 10: 133-138 (1990)
- 16.- Stephano, H.A. y Gay, G.M.: Síndrome del ojo azul en cerdos (1). Síntesis Porcina 4: 42-49 (1985)
- 17.- Stephano, H.A. y Gay, G.M.: Síndrome del ojo azul en cerdos (2). Síntesis Porcina 4: 9-14 (1985)
- 18.- Stephano, H.A. y Gay, G.M.: Síndrome del ojo azul en cerdos. Memorias de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. México, D.F. 1985, 299-311. Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, México, D.F. (1985)
- 19.- Stephano, H.A. y Gay, G.M.: Encefalitis, falla reproductiva y opacidad córnea, ojo azul. Síntesis Porcina 5: 26-39 (1986)

- 20.- Stephano, H.A.; Gay, H.A. y Ramírez, T.C.: Encephalomyelitis, reproductive failure and corneal opacity (blue eye) in pigs associated with a paramyxovirus infection. Vet. Rec. **12**: 6-10 (1988)