



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

INOCULACION EXPERIMENTAL DEL PARAMYXOVIRUS
DEL OJO AZUL, EN LA RATA DE LABORATORIO (WISTAR),
VIA ORONASAL Y SUBCUTANEA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
SANDOVAL FLORES MARTHA BEATRIZ

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



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.....	7
MATERIAL Y METODOS.....	8
RESULTADOS.....	11
CUADROS.....	13
DISCUSION Y CONCLUSIONES.....	20
LITERATURA CITADA.....	21

RESUMEN

Sandoval Flores Martha Beatriz. Inoculación experimental del Paramyxovirus del ojo azul, en la rata de laboratorio (Wistar), vía oronasal y subcutánea. Bajo la asesoría de los MVZ Humberto Ramírez Mendoza y MVZ Rosalba Carreón Nápoles.

Para el siguiente trabajo se ha seleccionado a la rata de laboratorio (Wistar), empleándose 44 especímenes dividido en 2 grupos, uno de hembras y otro de machos, con 2 testigos cada uno, inoculados con el Paramyxovirus del ojo azul (POA), el grupo de hembras fué inoculado vía subcutánea (S), y el grupo de machos, por vía oronasal (O), ambos con 1 ml del virus, con un título de $10^{5.55}$ DICC (Dosis infectante en cultivo celular)/ml.

Para Biometría Hemática, se encontraron cambios en los valores de las proteínas plasmáticas, hemoglobina, leucocitos, linfocitos, neutrófilos, y monocitos en el grupo subcutáneo.

Histopatología no se encontraron lesiones características de ojo azul.

Aislamiento viral de órganos no se detectó la presencia del virus a través de la hemoaglutinación (HA) ni por medio de inmunofluorescencias en cultivo celular (IFCC) en ambos grupos.

En los grupos (S) y (O) al hacer la serología con la técnica de Suero neutralización (SN), e Inhibición de la Hemoaglutinación (IHA), se encontraron respuestas bajas que van 1:2 a 1:32.

En ambos grupos al realizarse el aislamiento viral en heces por medio de la HA en las tres líneas celulares (MDBK, PK15, y BT), se encontraron muestras positivas durante todo el periodo experimental disminuyendo estas al darse el segundo pase, la IFCC solo presentó una muestra positiva en el día 30 (P.I) en el grupo (S), y para el grupo (O) en el día 3.

Las HA de las orinas para los grupos (S) y (O) resultaron positivas para las dos líneas celulares PK15, y BT, y fué más evidente en está última, en todo el periodo experimental, al realizarse un segundo pase los resultados fueron similares, la IFCC obtenida señaló muestras positivas durante todo el periodo.

Capas flogísticas. En el grupo (S) hubieron HA sobre los tres diferentes monoestratos correspondiendo a los días 10, 15, 30 y 35 (P.I), sin embargo al realizar las IFCC no se detectaron muestras positivas. Por el contrario en el grupo (O), no hubieron HA en los 3 diferentes monoestratos, pero si se detectó IFCC entre los días 1 al 5 y del día 35 (P.I).

INTRODUCCION

El cerdo es una de las especies domésticas, que sin duda alguna es de las más interesantes en el terreno económico, así como dentro del campo de las explotaciones ganaderas, constituyendo uno de los más importantes capítulos de la economía de la mayoría de los países, su adaptación a las más variadas condiciones del medio ambiente y explotación. En la cría y explotación del cerdo no debe descuidarse ninguno de los distintos temas o factores que comprende, pues todos son de capital importancia y están ligados entre sí, de tal suerte que las fallas de uno de ellos repercute de inmediato en los demás. En el caso particular de las enfermedades, algunas son tan frecuentes y graves, que podría considerarse como la única causa por la cual la ganadería porcina en México, no ha alcanzado el desarrollo que puede y debe alcanzar, debido a que materialmente acaban con las poblaciones porcinas de las zonas en donde se presentan, otras no causan bajas sensibles pero retrasan considerablemente el desarrollo de los animales además de fallas reproductivas que reducen las ganancias al aumentar en forma alarmante los costos de producción (5). Es por ello, que entre las enfermedades virales que se han presentado en México en forma reciente, se menciona a la enfermedad de Ojo Azul, cuya epizootiología no está todavía bien definida. Esta enfermedad se presenta por primera vez en La Piedad Michoacán, al aparecer un brote caracterizado por signos nerviosos, falla reproductiva, opacidad corneal azul turquesa en lechones y cerdos mayores, por lo que se le conoció como Síndrome del Ojo Azul (SOA) (16,21,22). Los primeros intentos por reconocer la causa del síndrome llevaron a pensar en una deficiencia de vit. A, intoxicación y queratitis por deficiencias de riboflavina (2,13,20), pero estas hipótesis fueron descartadas, no fué sino hasta mediados de 1980, cuando en un brote de una enfermedad en lechones lactantes que mostraron signos nerviosos y opacidad en la córnea, se aisló, un virus hemoaglutinante, un virus diferente a los conocidos en México tales como: Cólera porcino, Tremor congénito y la enfermedad de Aujeszky (11,20). Después mediante pruebas de identidad y caracterización realizadas por Kresse y Moreno López se demostró, que se trataba de un nuevo Paramyxovirus (4,12,15).

En tinciones negativas de sobrenadante de células infectadas, el virión se observa con el microscopio electrónico, encontrándose partículas virales de 2 tipos: pequeña 100 a 150 nm, y grandes 300 a 360 nm (17,18), resistente a la actinomicina D, indicando RNA en su genoma. Se replica con facilidad en cultivo primario de células de riñón de cerdo, tiroides de bovino y en líneas celulares tales como: Riñón de cerdo (PK15), testículo de cerdo (TC), mono (vero maru), riñón de gato (CK), embrión de bovino (BEK), riñón de hamster (BHK21) y dermis equina (ED). En monocultivo de riñón primario y células PK15, se produce efecto citopático con formación de sincitios caracterizados por fusión de 3 a 20 núcleos en 24 a 48 hrs., además de haber células voluminosas que se desprenden y quedan suspendidas en el medio de cultivo (3), crece en abundancia en el embrión de pollo, causando una mortalidad del 50 % con un período de incubación de 72 hrs. (17,22).

CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS. Hemoaglutina eritrocitos de varias especies (vaca, caballo, cerdo, cabra, cuyo, gato, hamster, rata, ratón, conejo, gallina), y de humano tipo A, B, AB y O, y en estas especies se observa elusión a 37° C, entre 30 y 60 minutos. El virus muestra sensibilidad a los solventes de lípidos (éter, cloroformo), inactivándose (20,22).

Por serología (sueroneutralización, inmunodifusión e inhibición de la hemoaglutinación), el virus no está relacionado con paramyxovirus (PMV)1 (Sendai-Newcastle), PMV2, PMV3, PMV4, PMV6 y PMV7; parainfluenza 1,2,3,4a,4b, ó 5; coronavirus de la encefalitis por virus hemoaglutinante (EVH).

Aun no hay un programa oficial para controlar o erradicar esta enfermedad por lo que, hay que evitar una mayor propagación en la República Mexicana. Actualmente existen 16 estados en los que se han detectado anticuerpos contra la enfermedad, presentándose con mayor frecuencia en los meses de Marzo-Agosto (7,8).

Los signos difieren de acuerdo a la edad de los cerdos. En lechones de 2 a 15 días se caracterizan por una súbita presentación de los signos clínicos que van desde la postración signos nerviosos como, incoordinación, rigidez de los miembros posteriores y temblores

musculares, no hay anorexia, hay nistagmus, conjuntivitis lagrimeo, párpados pegados, opacidad corneal uni o bilateral sólo en el 1-10 % de los lechones afectados y elevada mortalidad esta ocurre después de 3 a 5 días.

En cerdos de más de 30 días los signos nerviosos son raros, presentándose anorexia, incoordinación, marcha en círculos, movimientos pendulares de la cabeza y pocos mueren por la enfermedad a menos que se presente asociada a otras afecciones o enfermedades con frecuencia respiratorias. La afección más frecuente es la conjuntivitis y opacidad de la córnea en el 1 al 4 % de los cerdos.

Los animales reproductores al igual que los cerdos en maternidad ocasionalmente desarrollan opacidad corneal, principalmente las cerdas primerizas. En cerdas gestantes se manifiesta con falla reproductiva, reabsorciones, fetos momificados, mortinatos, abortos (relacionado a veces con otras enfermedades), y lechones nacidos débiles; como consecuencia baja en el porcentaje de fertilidad (7, 11, 18).

En lo que se refiere a los sementales se tiene poca información, hallándose principalmente una orquitis, epididimitis y atrofia testicular (1).

La vía natural de infección es la nasofaringe. El sitio inicial de replicación es la mucosa de los cornetes y en la tonsila de ahí pasa al sistema nervioso central y pulmón, desconociéndose la forma en que llega al encéfalo, tonsila y pulmón de cerdos infectados experimentalmente, entre los 4 y 20 días después de la infección (15).

A la necropsia en orden de frecuencia se observa congestión del encéfalo, bronconeumonía, opacidad y edema corneal uni o bilateral, aumento del líquido cefalorraquídeo (14).

Los principales cambios se localizan en sistema nervioso central se ha observado una encefalitis no supurativa, caracterizado por gliosis focal y difusa, e infiltración leucocitaria perivascular. En pulmón hay zonas localizadas y diseminadas de neumonía intersticial, en donde el septo alveolar se ve engrosado por células mononucleares. En el ojo de los cerdos con opacidad de la córnea, hay uveítis anterior, el edema corneal es variables. Hay infiltración por células inflamatorias (mononucleares y neutrófilos), en el ángulo irido

corneal, unión esclero corneal, y endotelio corneal; en la capa interna de la córnea puede haber un estrato de macrófagos y neutrófilos, así como un aumento en la vascularización.

Muchos animales tienen tonsilitis moderada con descamación del epitelio y células inflamatorias en criptas (10,14,19).

El diagnóstico está basado, en los signos clínicos; aislamiento viral; pruebas inmunoenzimáticas; inhibición de la hemoaglutinación (IHA) y sueroneutralización (SN) (10,19).

En lo que se refiere a biometría hemática, se ha encontrado una leucocitosis, neutrofilia o hiperproteinemia, sin embargo no se han realizado más estudios al respecto (9).

La única especie donde se ha confirmado la enfermedad en forma natural es el cerdo.

En lechones inoculados experimentalmente el virus se recupera de sangre y de los diferentes tejidos como: riñón, bazo, hígado, ganglios mesentéricos, en que se realizó el aislamiento. Sin embargo, en estos tejidos no se observaron cambios macroscópicos o histológicos, lo que indica que la viremia es parte importante en la diseminación del virus en el animal, pero no se sabe cuando ocurre esto.

La opacidad corneal en cerdos infectados naturalmente indican que es debida aparentemente a una respuesta inmunológica (probablemente hipersensibilidad tipo III) (17).

Experimentalmente se inoculan embriones de pollo de 6 días en la cavidad alantoidea, muriendo el 50 % de los embriones a las 72 hrs. postinfección, detectándose actividad hemoaglutinante en el fluido alantoideo. Al ser infectados ratones con el POA por vía intracerebral, se observó temblor y excitación, la muerte ocurrió entre los 3 y 5 días después de la inoculación (14). A los perros se les ha dado de comer carne de cerdo infectado sin que desarrollen signos clínicos ni anticuerpo (3).

Gatos infectados experimentalmente no mostraron signos de la enfermedad (22).

El conejo es resistente a la infección intramuscular, no presenta signos de la enfermedad, aunque hay desarrollo de anticuerpos (3,13). Humanos en contacto con el virus fueron

negativos serológicamente, además de no ser un riesgo el consumir carne de los cerdos infectados (3).

Se desconoce el papel que juegan otras especies animales sean domésticas o silvestres, como también se desconoce, por cuanto tiempo eliminan el virus los animales enfermos (14).

Es por ello que para el siguiente estudio se ha seleccionado a la rata de laboratorio (*Wistar*) que favorece un amplio rango de procedimientos en la investigación por su docilidad y manejo.

HIPOTESIS

La rata de laboratorio al ser inoculada por las vías subcutánea y oronasal con el POA pudiera tener una respuesta inmunológica de tipo humoral, y causar signos clínicos y lesiones en los diferentes órganos de replicación del virus, así como su posible eliminación de heces y orina.

OBJETIVOS

Determinar si el POA es capaz de infectar y causar signos de la enfermedad en la rata

Determinar si el POA causa respuesta inmunológica de tipo humoral

Determinar por cuanto tiempo se puede recobrar el virus activo de heces, orina y tejidos.

Determinar lesiones macroscópicas y microscópicas en los diferentes órganos de replicación del POA.

Determinar si existen cambios en la biometría hemática, de las muestras de sangre.

MATERIAL Y METODOS

Se emplearon 44 ratas (Wistar), proporcionadas por el bioterio de la Facultad de Medicina; las ratas tenían al llegar, una edad entre los 2 y 3 meses, con un peso promedio de 250 g., divididos en dos grupos, con 2 testigos cada uno, el primer grupo estaba formado por hembras inoculadas subcutáneamente, el segundo grupo estaba formado por machos inoculados oronasalmente, ambas inoculaciones se hicieron con 1 ml. del virus con un título de $10^{5.55}$ DICC/ml. Para la toma de muestras de sangre y posterior sacrificio se utilizó, como tranquilizante al Hidrocloruro de Xilacina 3 mg/kg de peso, y como anestésico al Clorhidrato de Ketamina 40 mg/kg de peso (6). El tiempo empleado para ambas pruebas fué de 35 días, empleándose los intervalos postinoculación de: 1,3,5,7,10,15,20,25,30 y 35 días; para el día 0, se sangraron y sacrificaron por desnucamiento a los 2 testigos, lo mismo se hizo con los demás animales, inoculados en los intervalos de tiempo ya mencionados. Las pruebas empleadas se describen a continuación:

BIOMETRIA HEMATICA. Se obtuvieron muestras de sangre vía intracardiaca, con tubos vacutainer con anticoagulante, la cual se remitió al Laboratorio Clínico para su análisis.

Posteriormente las ratas fueron sacrificadas por desnucamiento.

HISTOPATOLOGIA. Posterior a la necropsia se enviaron en frascos identificados y con fórmol al 10%, los siguientes órganos: Hígado, bazo, riñón, intestino, testículo, ojo, encéfalo, tonsila y pulmón. De estos tres últimos órganos, la mitad será para aislamiento viral y recolectados en recipientes estériles y congelados hasta su uso.

AISLAMIENTO VIRAL DE ORGANOS. El encéfalo pulmón y tonsila, se maceraron al 10% en solución de Hank's , y centrifugados 30 minutos a 3000 rpm, el sobrenadante fué filtrado obteniéndose así el inóculo, empleándose 0.2ml de este para inocular cada monoestrato de células de riñón de bovino (MDBK), células de riñón de cerdo (PK15), y células de cometa de bovino (BT), en los tubos de Leighton, transcurridas 72 hrs. postinoculación se hicieron hemoaglutinaciones (HA) con los sobrenadantes con glóbulos rojos de bovino al 0.5%, y las laminillas se fijaron con acetona, y fueron teñidas con el

conjugado específico del POA, enseguida fueron colocadas dentro de una cámara húmeda a 37° C 30 minutos, después se lavaron con agua destilada y se fijaron a un porta objetos, observándolas al microscopio de inmunofluorescencia.

PREPARACION DE SUEROS. Después de haber sido tomadas las muestras de sangre en tubo vacutainer sin anticoagulante se separó el suero y se inactivó en baño maría a 65° C durante 30 minutos, depositándose en placas de fondo plano, en forma estéril y manteniéndose a - 20° C listo para su uso, para las pruebas de (IHA) y (SN).

PRUEBA DE LA INHIBICION DE LA HEMOAGLUTINACION. El antígeno utilizado fué de la cepa PAC LVI pase 4 propagado en células PK 15, y titulado por medio de la técnica de hemoaglutinación en microplaca de 96 pozos fondo en U* , empleándose como diluyente solución buferada de fosfatos (PBS), las diluciones fueron 1:2 a 1:256 con un volumen inicial de 0.05 ml y un volumen final de 0.025 ml agregándose después 0.025 ml por pozo de glóbulos rojos de bovino al 0.5%. el antígeno fué ajustado con un título de 8 UHA (Unidades hemoaglutinantes).

Los sueros inactivados se adsorbieron con 0.1 ml de kaolín y 0.1 ml de glóbulos rojos de bovino al 5% durante 24 hrs. a 4° C. La IHA se hizo en placas de 96 pozos de fondo en U. En toda la placa se colocaron 0.05 ml de PBS por pozo, agregándose 0.05 ml de suero problema inactivado y adsorbido en el primer pozo de cada columna, para después hacer diluciones de 1:8 a 1:1024 después de esto se agregaron 0.05 ml de glóbulos rojos de bovino al 0.5%. Se emplearon 4 testigos: suero positivo, suero negativo, de virus y otro de glóbulos rojos de bovino.

TÉCNICA DE LA SUERONEUTRALIZACION. Esto se hace al colocar en una placa de fondo plano 0.05 ml de solución de Hank's en cada pozo, en una orilla se ponen los sueros problema 0.05 ml de cada uno, se diluye con la multipipeta de 0.05 ml enseguida se agrega el virus diluido a 300 DICC/0.050 ml por pozo, se deja incubar por 1 hr. a medio ambiente, pasado este tiempo se transfiere el contenido de toda la placa a otra de fondo plano con el

monoestrato de células PK15, la transferencia se hace de la dilución menor a la mayor, dejándolas incubar por 72 hrs. a 37° C, después de este tiempo se tomó sobrenadante y se transfirió 0.05 ml a una placa fondo en U para ser HA con glóbulos rojos de bovino al 0.5% , la placa en fondo plano se decantó y se tñó con cristal violeta.

AISLAMIENTO VIRAL DE HECES Y ORINA. A la recolección de heces seguirá el macerado, con solución de Hank's a razón de 1:10 , el mismo procedimiento de centrifugado y de filtración que se hiciera para órganos se efectuara también , al obtenerse los inóculos éstos servirán para inocular el monoestrato de células MDBK, PK15, y BT contenido en los tubos de Leighton, a las 72 hrs. se tomaron 0.05 ml de sobrenadante de los tubos y se HA con glóbulos rojos de bovino al 0.5%.

Lo mismo se realizó con las orinas, aunque cabe mencionar que la orina en ocasiones fué recolectada junto con el alimento.

CAPAS FLOGISTICAS. Se obtuvo sangre en tubos vacutainer con anticoagulante vía intracardiaca, agregando la misma cantidad de histopaque** en forma estéril, y centrifugando a 2000 rpm durante 30 minutos, al obtenerse la capa de células blancas se colocaron en una solución de Hank's, y se empleó como inóculo para tubos de Leighton conteniendo monoestratos de células MDBK, PK15, y BT, después de 72 hrs. (P.I) se tomó sobrenadante y se realizaron las HA correspondientes con glóbulos rojos de bovino al 0.5% y sus correspondientes IFCC.

** SIGMA

RESULTADOS

A través de las muestras de sangre que se obtuvieron para BIOMETRIA HEMATICA se encontraron cambios en lo que se refiere a proteínas plasmáticas, y neutrófilos en los días 1 a 3 (P.I), en hemoglobina, leucocitos y linfocitos en los días 1 al 7 (P.I), por último entre los días 1 al 10 (P.I) en los monocitos. Cuadro (1), sin embargo el número de animales empleados como testigos fué reducido.

Estos resultados fueron solamente para los primeros diez días postinoculación del grupo subcutáneo.

HISTOPATOLOGIA no se hallaron lesiones características de Ojo Azul macroscópicas como microscópicas como las observadas en cerdos.

AI SLAMIENTO VIRAL EN ORGANOS. Al incubar los monocultivos celulares MDBK, PK15, y BT a partir de macerados de órganos (encéfalo, tonsila y pulmón) en los grupos subcutáneo (S) y oronasal (O) no se detectaron HA a las 72 hrs., tampoco existieron inmunofluorescencias positivas.

Al evaluar los niveles de anticuerpos en las ratas a través de la SN o IHA a las 72 hrs., se presentó una respuesta baja; para ambos grupos Cuadro (2).

Se inocularon las heces de las ratas colectadas durante los 35 días de experimentación en las tres líneas celulares (MDBK, PK15, y BT) . Hallándose en el grupo (S) durante todo el período , aunque fué menor el número de muestras detectadas (3). En el grupo (O) las HA se encontraron a partir del día 8 (P.I), continuando así hasta el día 35 Cuadro (4).

Para comprobar la presencia del virus se hizo un pase de todas las muestras utilizando nuevamente las tres líneas celulares para ambos grupos, en los que siguió existiendo HA a las 72 hrs. , pero en menor número de muestras, sin embargo está presente a lo largo de todo el experimento Cuadros (3,4).

Para confirmar que la HA correspondía a la presencia del virus se realizaron IFCC, a partir de las muestras que resultaron positivas, y se encontró que en el grupo (S) se confirmó una

muestra positiva en el día 30; y para el grupo (O) la fluorescencia de la muestra fué en el día 3 (P.I) Cuadros (3,4).

Se inocularon las muestras de orina para ambos grupos en los 3 diferentes monoestratos celulares, a partir de estos se realizó HA a las 72 hrs., en los cuales resultaron positivas 2 líneas celulares PK15 y BT, y fué más evidente en las células BT, durante todo el periodo experimental Cuadros (5,6).

Para confirmar este comportamiento se hizo un segundo pase, siendo el comportamiento similar. A partir del primer pase se inocularon nuevamente otros monoestratos celulares para la fluorescencia obteniéndose resultados nuevamente similares a las HA Cuadros (5,6).

CAPAS FLOGISTICAS. En el grupo (S), hubo HA sobre los monoestratos de las muestras correspondientes a los días 10,15,30 y 35 (P.I), sin embargo al realizar las IFCC no se detectaron muestras positivas Cuadro (7). Por el contrario en el grupo (O) no hubieron HA de los monoestratos inoculados, pero si se pudo detectar IFCC entre los días 1 al 5 y del día 35 Cuadro (8).

La especificidad del virus lo hace característico de especie, no hallándose signos y lesiones característicos de la enfermedad, sin embargo el virus pudo ser aislado.

CUADRO 1 RESULTADOS DE LAS BIOMETRIAS HEMATICAS
GRUPO SUBCUTANEO

D.P.I	SEXO	Hr (%)	Hb (g/dl)	P.P (g/dl)	LEUCOCITOS (mm ³)	NEUTROFILOS (mm ³)	BANDAS (mm ³)	LINFOCITOS (mm ³)	MONOCITOS (mm ³)	EOSINOFILOS (mm ³)
0	H	35	14.6	7.8	9500	3200	95	5225	190	
0	H	34.5	14.4	8	6400	1020	60	4800		120
1	H	38.5	15.6	9	4800					
1	H	42	15	9.1	7400	3108		3996	296	
3	H	40	16.4	8.7	2700	729		1863	108	
5	H	37	15.2	7.8	3700	1480		2137	37	
5	H	37	14.6	7.7	11400	3990		6726	684	
7	H	37.5	14.2	7.6	7500	1650	75	5550	225	
7	H	40	15.6	7.5	3800	680		3078	114	
10	H	26	12.4	6.7	7500	2175		4500	600	150

D.P.I= Días postinoculación

0= Animales testigos

CUADRO 2 TITULOS DE SUERONEUTRALIZACION (SN) E INHIBICION DE LA HEMOAGLUTINACION (IH)

GRUPOS : SUBCUTANEO (S) Y ORONASAL (O)

D.D.S.	No. RATA	SN (S)	IH (S)	SN (O)	IH (O)
0	1		T		T
	2		T		T
1	3				
	4				
3	5				
	6	1:2			
5	7				1:16
	8	1:2			
7	9				1:16
	10				
10	11			1:8	
	12			1:8	
15	13			1:32	
	14				
20	15				
	16				
25	17				
	18		1:16		
30	19				
	20				
35	21				
	22				

D.D.S. - DIAS DESPUES DEL SACRIFICIO

T = Animales testigo resultaron negativos

**CUADRO 3. RESULTADOS DE LAS HEMOAGLUTINACIONES (HA)
E INMUNOFLUORESCENCIAS EN CULTIVO CELULAR (IFCC)
HECES
GRUPO SUBCUTANEO**

D. P. I.	MDBK PK-15 Pp BT	MDBK PK-15 Sp BT	PK-15 IFCC
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			

D.P.I. = DIAS POSTINOCULACION

Pp = PRIMER PASE

Sp = SEGUNDO PASE

NOTA = No se incluye a los testigos pero estos fuerón negativos

CUADRO 4. RESULTADOS DE LAS HEMOAGLUTINACIONES (HA)
E INMUNOFLUORESCENCIAS EN CULTIVO CELULAR (IFCC)
HECES
GRUPO ORONASAL

D. P. I.	MDBK PK-15 BT Pp	MDBK PK-15 BT Sp	PK-15 IFCC
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			

D.P.I. = DIAS POSTINOCULACION

Pp = PRIMER PASE

Sp = SEGUNDO PASE

NOTA = No se incluye a los testigos pero estos fueron negativos

CUADRO 5. RESULTADOS DE LAS HEMOAGLUTINACIONES (HA)
E INMUNOFLUORESCENCIAS EN CULTIVO CELULAR (IFCC)
ORINAS
GRUPO SUBCUTANEO

D. P. I.	MDBK PK-15 Pp	BT	MDBK PK-15 Sp	BT	PK-15 IFCC
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					+

D.P.I. = DIAS POSTINOCULACION

Pp = PRIMER PASE

Sp = SEGUNDO PASE

NOTA = No se incluye a los testigos pero estos fueron negativos

**CUADRO 6. RESULTADOS DE LAS HEMOAGLUTINACIONES (HA)
E INMUNOFLORESCENCIAS EN CULTIVO CELULAR (IFCC)
ORINAS
GRUPO ORONASAL.**

D. P. I.	MDBK PK-15 Pp	BT	MDBK PK-15 Sp	BT	PK-15 IFCC
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					

D.P.I. = DIAS POSTINOCULACION

Pp = PRIMER PASE

Sp = SEGUNDO PASE

NOTA = No se incluye a los testigos pero fuerón negativos

**CUADRO 7. RESULTADOS DE LAS HEMOAGLUTINACIONES (HA)
E INMUNOFUORESCENCIAS EN CULTIVO CELULAR (IFCC)
CAPAS FLOGISTICAS
GRUPO SUBCUTANEO**

D.P.I.	No. RATA	MDBK	PK15	BT	PK 15 IFCC
0	1,2			T	
1					
3					
5					
7					
10	11		+	+	
15			+	+	
20					
25					
30	20		+	+	
35			+	+	
	22				

**CUADRO 8. RESULTADOS DE LAS HEMOAGLUTINACIONES (HA)
E INMUNOFUORESCENCIAS EN CULTIVO CELULAR (IFCC)
CAPAS FLOGISTICAS
GRUPO ORONASAL**

D.P.I.	No. DE RATA	MDBK	PK15	BT	PK15 IFCC
0	1-2			T	
1	3-4				+
3	5-6				+
5	7-8				+
7					
10					
15					
20					
25					
30					
35					

D. P. I. = DIAS POSTINOCULACION

T = Animales testigo resultaron negativos.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

DISCUSION

En *Histopatología* no existió la presencia de lesiones en los diferentes órganos, en ausencia de estos existió un desarrollo de anticuerpos aunque fué bajo.

Los órganos de replicación del virus en el cerdo, no resultaron serlo para la rata, encontrándose resultados negativos, en cambio el virus se pudo aislar de sangre, heces y orina.

En las serologías con SN e IHA para ambas vías resultó ser baja, esto es debido probablemente a la vía de inoculación y a las características del inóculo, al no propiciar una adecuada respuesta para la generación de anticuerpos.

En aislamiento viral en heces grupos (S) y (O), la disminución de muestras que HA en el segundo pase es atribuible a que en el primer pase existió la presencia de HA inespecíficas.

El comportamiento similar en las muestras de orina que HA a lo largo del período de experimentación en el primero y segundo pase, en especial de las células BT, fué debido quizá a que en el aislamiento del virus mostró tener esta línea celular mayor habilidad de responder al virus.

En las Capas Flogísticas en el grupo (S), la falta de fluorescencias positivas, se debió probablemente a la presencia de HA inespecíficas; para el grupo (O), la cantidad de virus necesario para HA no fué el suficiente, sin embargo para fluorescer sí.

CONCLUSIONES

La alta especificidad del virus lo hace característico de especie, por lo que en las ratas no se hallaron signos y lesiones característicos de la enfermedad del Ojo Azul como en el cerdo, sin embargo pudo ser aislado.

LITERATURA CITADA

- 1.- Campos, H.R. y Carbejal, S.M.: Transtornos reproductivos en los sementales de una granja porcina de ciclo completo ante un brote de ojo azul. Congreso de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. Morelia Michoacán. 1989.62-64. Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. México, D.F. (1985).
- 2.- Campos, M.E.: Síndrome del "Ojo Azul" ó Cerdos Zarcos. Memorias de la XVII Convención de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. Ixtapa, Zih., Gro. 1981.44-45. Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. México, D.F. (1981).
- 3.- Carreón, N.R.: Más sobre la enfermedad del ojo azul. Síntesis Porcina 9:60-62 (1990).
- 4.- Carreón, N.R. y Fuentes, R.M.: Frecuencia de anticuerpos contra el paramyxovirus del ojo azul en los cerdos del altiplano y norte de México. Vet. Méx. 22:177-179 (1991).
- 5.- Flores, M.J.; Agraz, G.A.: Ganado Porcino (Cría, explotación, enfermedades e industrialización) II. LIMUSA México, D.F. (1987).
- 6.- Fox, J.G.; Cohen, B.J.; Loew, F.M.: Laboratory Animal Medicine. Academic Press, Inc. 1984.
- 7.- Fuentes, R.M.; Carreón, N.R.; Ramírez, M.H.; Trujillo, O.M. y Fraire, I. Estudio piloto de la frecuencia de anticuerpos contra el paramyxovirus del ojo azul en cerdos de la República Mexicana. Vet. México 23 :37-39 (1992).
- 8.- Fuentes, R.M.; Carreón, N.R.; Stephano, H.A. y Trujillo, O.M.: Frecuency of Blue Eye Paramyxovirus Antibodies in México Pigs. Proceeding of International Pig Veterinary Society, 11 th Congress. Lausanne, Suiza 1990. 274 International Pigs Veterinary Society. Suiza (1990).
- 9.- Galina, P.L.; Martínez, L.A.; Córrea, G.P.; Colinas, T.A.; Anaya, E.; Aguilar, R.R. y Ramírez, R.: Transmisión experimental del Paramyxovirus Porcino de la Piedad Michoacán (Pp.LPM) en cerdos. Memorias de la XXIV Convención de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. Morelia, Michoacán 1989.84. Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. México, D.F. (1989).

- 10.- Hernández, J.P. ; Sundquist, A.; Fuentes, R.M. ; Díaz, O.A.; Reyes, L.J.; Moreno, L.J. y Hernández, B.E.: Correlación entre las pruebas de Virus Neutralización, Inhibición de la Hemoaglutinación y Elisa en sueros vacunales y de brote para anticuerpos contra el paramyxovirus del síndrome de ojo azul en cerdos. Vet. Méx. 23:217-222 (1992).
- 11.- Martínez, L.A.; Colinas, T.A; Córrea, G.P; Ramírez, N.; Garibay, S.M.; Coss, M.; Bez, A. y Caba, A.A.: Determinación de anticuerpos inhibidores de la hemoaglutinación contra el Paramyxovirus LPM en cerdos con signos nerviosos, y con y sin opacidad de la córnea.Memorias de la Reunión de la Investigación Pecuaria en México 1987 UNAM-SARH 76-78 México,D.F. (1987).
- 12.- Martínez, L.A. y Córrea, G.P.: Un virus hemoaglutinante similar a los paramyxovirus que producen encefalitis y mortalidad en cerdos.Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México. México,D.F. 1985, 81-82. Universidad Nacional Autónoma de México, México,D.F. (1985).
- 13.- Rosales, E.F., y Corréa, G.P.: El Síndrome del Ojo Azul I. Avances en Medicina Veterinaria 9 : 99-103 (1990).
- 14.- Rosales, E.F., y Córrea, G.P.: El Síndrome del Ojo Azul II. Avances en Medicina Veterinaria 10: 133-138 (1990).
- 15.- Stephano, H.A.: El Síndrome del Ojo Azul y la Investigación. Síntesis Porcina 5:14-24 (1986).
- 16.- Stephano, H.A.; Doporto, J.M. y Gay ,G.M.: Estudio epidemiológico en 2 granjas afectadas por el síndrome del ojo azul. Proceedings of the International Pig Veterinary Society, 9 th. Congress Barcelona, España 1986. 456. International Pig Veterinary Society. Barcelona, España (1986).
- 17.- Stephano, H.A. y Gay, G.M.: Síndrome del ojo azul en cerdos. Avances sobre enfermedades del cerdo.1985. Memorias de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en cerdos.México D.F.1985. 209-311. Asociación Mexicana de Veterinarios especialistas en cerdos .México, D.F. (1985).
- 18.- Stephano, H.A y Gay, G.M.: Síndrome del ojo azul en cerdos I . Síntesis Porcina 4:42-49 (1985).
- 19.- Stephano, H.A. y Gay, G.M.: Síndrome del ojo azul en cerdos II. Síntesis Porcina 4:42-49

(1985).

20.- Stephano ,H.A. y Gay, G.M.: Encefalitis, falla reproductiva y opacidad de la córnea en cerdos, ojo azul. Síntesis porcina 5:26-39 (1986).

21.- Stephano, H.A. y Gay, M.G.: Encefalitis, trastornos reproductivos y opacidad de la córnea en cerdos (Síndrome del ojo azul) asociados a un paramyxovirus. Estudio cronológico. Med. Vet. 3:359-362 (1986).

22.- Stephano, H.A.; Gay, G.M. and Ramírez, T.C.: Encephalitis reproductive failure and corneal opacity (blue eye) in pig associated with a paramyxovirus infection. Vet. Rec. 122:6-10 (1988).