

HISOPOS NASAL Y OCULAR

El inóculo fue el medio en que fueron introducidos los hisopos. Se utilizaron 4 tubos de Leighton con monoestrato de células PK-15 por cada muestra, colocándose 0.5 ml. de inóculo y 0.5 ml. de medios**.

La lectura al microscopio así como la obtención de la laminilla para la prueba de inmunofluorescencia se realizaron a las 48, 72, y 96 hrs. para cada una de las muestras. El cuarto tubo se congeló y descongeló a las 96 hrs., para la prueba de hemoaglutinación con eritrocitos de cuye al 0.75% y de ave al 0.5%.

Se dieron 3 pases ciegos a cada muestra antes de darlos como negativos.

BIOPSA DE TONSILA

Las muestras fueron maceradas, centrifugadas y filtradas; obteniéndose así el inóculo, que fue procesado de igual manera que el inóculo de los hisopos.

PROCESAMIENTO DE ENCEFALOS TONSILAS Y PULMONES.

La mitad de los órganos se introdujeron en formol al 10% para un estudio histopatológico. Con la mitad restante se realizó la prueba de inmunofluorescencia.

MACERADO DE ENCEFALO

Se eligieron 6 encéfalos al azar, de los cuales se tomó una porción para preparar un inóculo, el cual fue manejado de la misma manera que los hisopos.

RESULTADOS OBTENIDOS EN LA SEROLOGIA

| GPO. | IDENT. | SERONEUTRALIZACION | | | INHIBICION DE LA H.A. | | |
|------|--------|--------------------|---------|------|-----------------------|---------|------|
| | | 0 | D I A S | | 0 | D I A S | |
| 1 | 1 | -- | -- | -- | -- | -- | -- |
| | 2 | -- | -- | -- | -- | -- | -- |
| | 3 | -- | -- | -- | -- | -- | -- |
| | 4 | -- | -- | -- | -- | -- | -- |
| | 5 | -- | -- | -- | -- | -- | -- |
| 2 | 1 | -- | 1.96 | 1.96 | -- | -- | 1.64 |
| | 2 | -- | 1.192 | 1.96 | -- | 1.16 | 1.64 |
| | 3 | -- | -- | 1.48 | -- | -- | 1.8 |
| | 4 | -- | -- | 1.96 | -- | -- | 1.32 |
| | 5 | -- | -- | -- | -- | -- | -- |
| 3 | 1 | -- | -- | 1.48 | -- | 1.4 | 1.4 |
| | 2 | -- | 1.24 | 1.96 | -- | 1.16 | 1.64 |
| | 3 | -- | 1.48 | 1.48 | -- | 1.16 | 1.16 |

METODOLOGIA

Se inocularon tres pécaris de collar, machos, adultos, vía intranasal, con Paramyxovirus del Ojo Azul, cepa denominada La Piedad, Michoacán [LPM] pase 3, con un título de 64 Unidades Hemoglutinantes [UHA], donada por J. Moreno López en 1985. Para su manejo, se le administro clorhidrato de ketamina a una dosis de 20 mgs. por kg. de peso vivo. Antes de la inoculación, se tomaron muestras de sangre vía vena cava anterior para la detección serológica de anticuerpos contra la POA utilizando la técnica de inhibición de la Hemoaglutinación [IHA] y sangre con anticoagulante [EDTA] para Biometría Hemática. Se registraron temperaturas cada vez que se maneja a los animales y se observaron signos clínicos diariamente. El día 4 Postinoculación [PI] se tomó una biopsia de tonsila, el día 15 PI hisopos de faringe y el día 30 PI hisopos de secreción nasales, con los que se inocularon tubos de leighton conteniendo un moestrato de células PK-15, que posteriormente a las 48, 72 y 96 hrs. PI, se fijaron y adicionaron de conjugado específico para la enfermedad de ojo azul y se observaron bajo el microscopio de inmunofluorescencia [1,3,5].

RESULTADOS

SIGNOS CLINICOS : Los pécaris 1 y 2 presentaron el día 1 P1 apatía, y una secreción nasal marcada a partir del día 20 y 17 P1 respectivamente. El pécarí 3 mostró al día 1 P1 apatía, ligera incoordinación, y secreción nasal al día 20 P1. Las temperaturas fueron variables cada vez que se maneja a los animales, fluctuando entre 37.5* C y 40.3*C, mostrando una disminución durante la última toma al día 70 P1.

PRUEBAS SEROLOGICAS [IHA] : Los días 0 y 4 P1 no hubo presencia de anticuerpos contra la POA en ninguno de los animales. El día 14 P1 el pécarí 1 mostró un título de 128 y los pécaris 2 y 3 títulos de 256. Los días 30, 70 y 95 P1 los tres pécaris mostraron títulos del 128.

BIOMETRIAS HEMATICAS: Conteo de leucocitos en cuadro No. 1

| PECARI | 1 (%) | | 2 (%) | | 3 (%) | |
|--------|----------------|------------|----------------|------------|-----------------|------------|
| DIA | Neutrofilos | Linfocitos | Neutrofilos | Linfocitos | Neutrofilos | Linfocitos |
| 4 | 78 S=74 B=4 | 19 | 66 S=63 B=3 | 34 | 65 S=61 B=4 | 34 |
| 14 | 51 S=51 B=0 | 45 | 70 S=68 B=2 | 27 | 68 S=49 B=19 | 31 |
| 70 | 44 S=44 B=0 | 55 | 49 S=49 B=0 | 42 | * | * |
| 95 | 47 S=47 B=0 | 48 | 68 S=68 B=0 | 32 | 56 S=55 B=1 | 44 |

NORMAL: Neutrófilos 66.0 +/- 3.2%

S= segmentados

B=banda

FUENTE: Lochmiller, et al. (1985) [5]

Linfocitos: 30.3 +/- 3.0%

* Muestra no trabajada.

INOCULACION DE TUBOS DE LEIGHTON: El inóculo realizado con biopsia de tonsila tomada el día 4 PI, mostró inmunofluorescencia [IF] hasta un segundo pase ciego en cultivos celulares a las 144 horas PI. Los hisopos tomados los días 14 y 30 PI mostraron IF en el primer pase por cultivos celulares. Los hisopos nasales de los pécaris 1 y 3 mostraron mayor IF, no observándose efecto citopático. Se observó la presencia de cuerpos de inclusión intraplasmáticos, por medio de IF en los cultivos celulares afectados.

DISCUSION

La inoculación de un virus, identificado y caracterizado como patógeno para el cerdo doméstico, en una especie animal con una similitud filogenética al cerdo, estimuló una respuesta inmune por lo que se puede decir que el virus logró atravesar las barreras primarias de defenza y con ello se llevó a cabo una replicación de este, para posteriormente ser identificado a través de una respuesta humoral. En los valores obtenidos de los neutrófilos, se manifestó variedad en el porcentaje de segmento y en banda, lo que nos sugiere una ligera desviación hacia la izquierda. Hay que considerar que para la edad de los animales no se debería de manifestarse la aparición de células en banda dentro del conteo de células sanguíneas. En la respuesta linfocitaria de uno de los pécaris se observó una curva de aumento en el número de linfocitos alcanzando un valor máximo al día 70 PI.

Los resultados anteriores sugieren ligeras alteraciones en los conteos de células sanguíneas, probablemente atribuibles a la acción viral.

Los pécaris de collar sufrieron una infección subclínica y llevaron un curso normal de producción de anticuerpos a los 14 días PI y hasta el final del período experimental durante este período se logró detectar al antígeno por medio de IF realizada en cultivo celular a partir de las tomas de biopsia de tonsilas y de los hisopos faríngeos y de secreciones nasales. La determinación en hisopo nasal, incrementa la probabilidad de que el virus se elimine en secreciones nasales, por lo que el pécarí de collar C puede actuar como portador de la enfermedad.

REFERENCIAS

- 1] Gallagher, J.F. Lochmiller, R.L. and Grant, W.E.: Inmovilization of collared peccaries with ketamin hydrochloride, J. Wildl Manage 49:pp.356-357 [1985]
- 2] Gay, G.M. Stephano, H.A. y Vergara, L.M.: Determinacion de anticuerpos contra un virus aislado en cerdos afectados con el Síndrome del Ojo Azul en suero de perros en contacto. Memorias de la XX Reunión AMVEC, Mérida, Yucatán. México. pp

69-70 [1985]

3]Locmiller,R.L.Hellgren,E.C.Robinson,R.M.and Grant,W.E.:
Techniques for collection blood from collared
peccaries,Dicotyles tajacu.Journal of Wildlife Diseases,20:1,
pp.47-50 [1984]

4]Lochmiller,R.L.Varner,L.W and Grant,W.E.:Hematology of
the collared peccary.J.Wildl,Manage 49: 1,pp.66-71 [1985].

5]Martínez L. A:Correa G.P.Fajardo M.R.:Garibay,M:Moreno-
López,Aislamiento y estudio de un virus porcino de la
paramyxovirus.Memorias de la XX Reunión AMVEC.Mérida,Yucatàn,
México,pp 75-78 [1985].

6]Rosales,E.F.y Ramos,R:Presencia de anticuerpos contra el
paramyxovirus porcino LPM en cerdas y ratas de la misma
granja.Memorias XXII Reunión Nacional AMVEC
Acapulco,Gro.pp.72-75 [1987].

7]Stephano,H.A.y Gay,M.:Síndrome del Ojo Azul en
cerdos.Síntesis Porcina, 4:5 pp 42-49 [1985].

8]Gordon,R.S.:Peste Bovina.En Davis,J. Karstad,L.:
enfermedades infecciosas de los mamíferos salvajes .la
edición.Acribia,Zaragoza,España.[1972]