

3

XXVII CONGRESO NACIONAL AMVEC 1992
ACAPULCO, GRO. MEXICO

DETECCION VIROLOGICA Y SEROLOGICA DEL PARAMYXOVIRUS DEL OJO
AZUL EN LA RATA

*Ramírez, H. G. *; Carreón , N.R. * y Ramírez, M.H. *

I N T R O D U C C I O N .

Actualmente las enfermedades del cerdo decrecen la productividad del 15 al 40 %. Hay que tomar en cuenta que cuando se presentan por primera vez, pueden afectar a toda la piara y posteriormente permanecen en forma enzoótica en la granja (20). Este es el caso de la enfermedad del ojo azul ocasionado por un paramyxovirus, que se presentó en la Piedad Michoacán, México en el año de 1980 (4,18). Se caracteriza por afectar al cerdo, siendo los lechones de 2 a 15 días de edad los más susceptibles, los principales signos son: opacidad corneal que puede variar desde 1 hasta 10% de los animales afectados, ésta generalmente es unilateral, pero en ocasiones llega a ser bilateral. Con frecuencia sólo se observa opacidad de la córnea sin signos nerviosos en lechones. Cuadro nervioso: incoordinación, rigidez principalmente en miembros posteriores, temblor muscular, marcha rígida o mediante brincos, movimientos de pedaleo. El porcentaje de morbilidad en las camadas afectadas varía del 20 al 90% y la mortalidad va del 40 al 100 %. En animales de más de 30 días de edad. Los signos nerviosos son raros y pocos mueren por la enfermedad, a menos que se asocie con otras infecciones de las cuales, las más frecuentes son las enfermedades respiratorias (Actinobacillus pleuropneumoniae, Pasteurella multocida, Mycoplasma hyopneumoniae) (10). El porcentaje de mortalidad es menor al 1% (1) . Se reporta que menos del 1 hasta 20 % de los cerdos desarrollan opacidad de la córnea, uni o bilateral. En el pie de cría se afectan los siguientes parámetros reproductivos: Aumento de hembras repetidoras (baja de 15 a 20 % la fertilidad del hato persistiendo por 6 a 8 meses). aumento en el número de lechones nacidos muertos (2 al 24 %) y fetos momificados (1 al 5%). en sementales afectados se ha referido, que a las 10 semanas postbrote, éstos presentan: anorexia, opacidad de la córnea unilateral, deterioro gradual de la condición física, orquitis aguda unilateral, atrofia del testículo, epididimitis bilateral a nivel de la cabeza con formaciones quísticas, deterioro progresivo de la libido y disminución de la motilidad espermática (19).

Experimentalmente se han inoculado ratones por vía intracerebral con una suspensión viral de POA, mostrando tremores y excitación y murieron entre los 3 y los 5 días postinoculación. En conejo adulto inoculado con POA por vía intramuscular, únicamente desarrollo anticuerpos (Ac's) (1).

La aparición de los brotes, esta relacionada con la

entrada de animales infectados con o sin opacidad de la córnea a granjas con cerdos susceptibles. También tiene importancia la entrada de vehículos y personas procedentes de granjas con problema de POA (14,15,17).

Hasta la fecha parece que el cerdo es el único animal afectado en forma natural. El papel que juegan en la diseminación de la enfermedad otras especies animales silvestres y/o domésticos, se desconoce, por lo que surge la necesidad de determinar o establecer otras especies animales que pueden ser susceptibles al POA, así como el papel que juegan dentro de la historia natural de la enfermedad (14). En un experimento se utilizaron siete perros localizados en tres granjas porcinas diferentes, en donde previamente se diagnosticó el POA. A los siete perros se les dió de comer carne de cerdo con POA, permaneciendo asintomáticos durante 30 días y no desarrollaron anticuerpos inhibidores de la hemoaglutinación contra POA (16). También se inoculó por diferentes vías a un perro mestizo recién destetado de 4 semanas de edad con el POA. El perro fue observado durante 1 mes sin que se presentaran signos aparentes (1).

En otro trabajo se estudiaron 31 sueros de ratas, colectadas en 6 granjas de ciclo completo localizadas en los Estados de México, Morelos, Michoacán y Distrito Federal. Se trabajaron mediante la prueba de inhibición de la hemoaglutinación. Obteniéndose los siguientes resultados: únicamente en el Estado de México el suero de una de 9 ratas estudiadas fue positivo con título de 1:20. En otra granja, de 5 sueros de ratas estudiados, 3 fueron positivos con títulos de 1:20. En las demás granjas todas las ratas fueron negativas, aunque en las cerdas se detectaron niveles de anticuerpos de 1:10 a 1:80 (13).

Como se puede observar falta mucho por investigar acerca de los posibles reservorios de la enfermedad, en éste estudio se ha seleccionado a la rata, para determinar el papel que desempeña en la historia natural del POA, ya que dicho animal se encuentra en la mayor parte de los lugares donde el hombre ha establecido, y debido a su íntima asociación es muy frecuente observarlas en las explotaciones porcinas ya que al tener alimento disponible y accesible así como albergue, éstas proliferan y son probablemente reservorios de la enfermedad de ojo azul (12). Por lo tanto la rata al estar en constante contacto con cerdos enfermos con el paramyxovirus de Ojo Azul, puede infectarse. El objetivo del presente trabajo fue aislar el virus de POA a partir de encefalos de ratas capturadas en una granja donde se diagnosticó la enfermedad y determinar la presencia de anticuerpos contra ésta.

Se seleccionó una granja ubicada en el Altiplano, la cual tuvo un brote de la enfermedad del Ojo Azul en 1989, en 1990 para erradicar la enfermedad se fueron desenchando los animales seropositivos, se lavaron y desinfectaron las instalaciones con la posterior utilización de animales centinelas. Con pruebas serológicas posteriores no se encontró la presencia de anticuerpos contra la enfermedad. En 1991 la granja se ve afectada nuevamente por el POA.

Se capturaron 25 ratas del área de engorda donde hay más problemas ocasionados por POA.

Se obtuvieron los encéfalos de cada una de ellas. Estos se seccionaron longitudinalmente para realizar con una mitad la inmunofluorescencia directa del órgano y con la otra mitad se realizó inóculo para el aislamiento viral en cultivo celular. Se inocularon 3 tubos de Leighton conteniendo un monoestrato de células PK-15, más un tubo testigo por cada muestra.

Los tubos de Leighton inoculados se observaron en un microscopio invertido esperando encontrar efecto citopático durante las 48, 72 y 96 horas postinoculación.

Al no observarse inmunofluorescencia positiva en el primer pase se les dió un segundo pase ciego, el cual fue inoculado con el sobrenadante del tubo de Leighton de 96 horas, éste se filtró; al tercer pase ciego se le hizo lo mismo, si no se observó inmunofluorescencia en las laminillas, la muestra fue considerada negativa. Al tubo de Leighton de 96 horas se le realizó la lisis celular, ya efectuado este se tomó 0.025 ml del sobrenadante y se realizó hemoaglutinación en placa con eritrocitos de cuye al 0.75 % y ave 0.5 % (2).

La muestra sérica se obtuvo por punción cardíaca, se realizó la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (IH) con 8 unidades hemoaglutinantes y sueroneutralización (SN) (6).

RESULTADOS.

Mediante la prueba de inmunofluorescencia directa de los encéfalos de las 25 ratas, se obtuvieron tres muestras con fluorescencia.

Todos los encéfalos de las ratas fueron inoculados individualmente en tubos de Leighton con células PK-15 para el aislamiento viral y los resultados obtenidos a las 48, 72 y 96 horas postinoculación fueron negativos en el primero, segundo y tercer pase ciego.

Con el sobrenadante del cultivo de 96 horas postinoculación de la prueba anterior, se realizó la prueba de hemoaglutinación en placa, cuyos resultados fueron negativos.

En lo que respecta a la serología, por medio de la prueba de inhibición de la Hemoaglutinación 9 sueros tuvieron un título de anticuerpos de 1:12 y 2 con 1:6; los 14

restantes no mostraron ninguna reacción.

En la Sueroneutralización se observó la lisis celular completa en todos los pozos de la placa ocasionada por el virus, lo que demuestra la ausencia de anticuerpos en los sueros estudiados. Por lo tanto se consideraron negativos.

D I S C U S I O N .

En la inmunofluorescencia de encéfalo se obtuvieron tres muestras con fluorescencia pero ésta no es una prueba muy específica ya que ésta puede ser ocasionada por reacciones inespecíficas, falla en la técnica o de observación, esto se comprobó con las técnicas siguientes al no obtener resultados positivos.

En los tres pases ciegos realizados en cultivo celular para el aislamiento viral no se mostró inmunofluorescencia que indica la presencia del virus por lo tanto se consideró negativo. El aislamiento viral es una prueba muy específica. Además en otros trabajos con enfermedades virales como son gastroenteritis transmisible, aujeszky y parvovirus porcina se ha comprobado que los agentes aunque se inoculen en grandes cantidades muchas veces no se logran aislar ya que se eliminan por pocas horas, por lo tanto no se pudo aislar al POA (3,5,8,9,11).

En la prueba de IAH se consideraron negativos los resultados, dado que en la literatura se cita como criterio de positividad a títulos IH mayores de 1:16, y se toma éste límite ya que el POA es un virus que nos puede dar reacciones cruzadas o tener hemaglutininas inespecíficas que nos pueden dar falsos positivos. Además éste método puede emplearse cuando no es posible analizar por las técnicas más sencibles. En trabajos realizados se ha comprobado que la prueba de IHA tiene un porcentaje de sensibilidad relativa (%SR) del 65.9 (7). Con respecto a ésta prueba se obtuvieron resultados contradictorios a los obtenidos en un trabajo realizado en ratas y cerdas de granjas con la presencia de la enfermedad. En los que se obtuvieron títulos de anticuerpos para las ratas de 2:20, y para las cerdas de 1:20 a 1:40.

En lo que respecta a la técnica de SN en toda la placa se dió el efecto citopático esto indica que el antígeno puesto en los pozos al no tener anticuerpos específicos el suero problema, no se neutralizó el virus. Esta prueba es de las más específicas y muestra un % SR del 89.1. El rango de Títulos positivos se consideró a partir de 1:8 (7).

C O N C L U S I O N E S .

El POA no se aisló de los encéfalos de la rata ni se detectaron anticuerpos séricos contra el virus.

De los resultados obtenidos se recomienda realizar estudios en condiciones controladas utilizando el POA tanto en ratas de laboratorio como en las provenientes de granjas libres de la enfermedad.

LITERATURA CITADA.

- 1.- Correa G.P.: Martínez. I.a. y Colinas, T.A: Síndrome del ojo azul producido por el paramyxovirus porcino. Instituto Mexicano Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias. CENIDMICROBIOLOGIA. 1990 .
- 2.- Contral, G.E: Manual of standardized Methods for Veterinary Microbiology. Cornell University Press. Ithaca, New York. 1978
- 3.- Cutler, R. Molitor, T.W; Sauber, T.E. and Leman, A.D.: Role of the Transmission of porcine Parvovirus. Am J. Vet. Res. 43: 493-496- (1982).
- 4.- Fuentes, R.M ; Carreón, N.R.; Sthepano, H.A. and Trujillo, O.M.: Frequency of Blue Eye Paramyxovirus Antibodies in Mexico Pigs. Proceeding Veterinary Society, 11 th, Congress. Lausanne, Suiza 1990. 274 International pigs Veterinary Society. Suiza 1990.
- 5.- Gough, M.P. and Jorgenson, R.D.: Identification of Porcine Transmissible Gastroenteritis Virus In House Flies (*Musca domestica limnneasus*). Am. J. Vet. Res. 11:44-48 (19983).
- 6.- Heberg, G.; Reed, R.L. and snyder, K.T.: Manual the Dianostic Virology Laboratory, National Veterinary Services Laboratories, Ames, Iowa, 1989.