

9

HEMOAGLUTINACION DEL PARAMYXOVIRUS DE OJO AZUL EN VARIAS ESPECIES DOMESTICAS UTILIZANDO DIFERENTES CONCENTRACIONES DE ERITROCITOS.

Ramirez M.H. Mercado G.C., RODRIGUEZ T.J., GONZALEZ C.T.,
STHEPANO H.A., FUENTES R.M., CASTILLO J.H.

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

Se sabe que el virus de ojo azul es capaz de aglutinar glóbulos rojos de vaca, caballo, cerdo, cabra, gato, perro, cuye, hamster, rata, conejo, raton, gallina y humano de tipo A,B,AB, Y O. El virus se inactiva a 56 c durante 4 horas mientras que la hemaglutinación viral se pierde hasta las 48-60 horas a 56 c; también se pierde con formol al 10. (2).

Es también sabido que los mejores títulos hemoaglutinantes se observan en ave, cuye, y pavos.

Existen hemolisis cuando se concentra el virus.

O B J E T I V O .

Determinar el título hemoaglutinante del paramyxovirus de ojo azul en varias especies utilizando diferentes concentraciones de glóbulos rojos y diferente temperatura.

M A T E R I A L M E T O D O S .

Antígenos.

Se titularon 3 diferentes tipos de antigenos basados en la forma de obtenerse.

- 1.- Antígeno obtenido a partir de cultivo celular (A.C.C).
- 2.- Antígeno obtenido a partir de embrión de pollo (A EPO).
- 3.- Antígeno dializado. Obtenido a apartir de cultivo celular sometido a dialisis durante 24 horas con solución salina a 4 c.

G L O B U L O S R O J O S .

Se emplearon glóbulos rojos de :

- | | |
|-----------------------------------|----------|
| - Humano tipo B | - Conejo |
| - Pollo recién nacido | - Cuye |
| - Pollo de 4 meses | - Cerdo |
| - Reproductora ligera de desecho. | - Perro |

Las concentraciones fueron de 0.50, 0.75, 1.0% para cada una de las especies.

La temperatura de 25 c 37 c para cada especie para cada

una de las concentraciones.

Cada combinación de las concentraciones de glóbulos rojos , de las temperaturas se hicieron en un solo día para cada una de las especies, no se utilizo el mismo lote de antígeno al cambiar de especie.

Para evaluar el efecto causado por el mismo antígeno se prepararon 4 diferentes concentraciones de globulos rojos por especie solo se hicieron 2 lecturas a la hora a 25 c a las 24 horas colocando estas mismas placas a 4 c.

R E S U L T A D O S .

POLLO RECIEN NACIDO

- Los títulos más altos se alcanzan con antígeno de EPO.
- Conforme disminuye la concentración de G.R. aumenta el título.
- En concentraciones de .75, 1% se observa sedimentación después de la hora, no sucediendo esta situación con eritrocitos de ave adulta o pollo de 7 semanas.

AVE DE 7 SEMANAS

- Al aumentar la temperatura los niveles homoaglutinantes disminuyen y son menos estables conforme transcurre el tiempo.
- Con el antígeno proveniente de embrión de pollo se alcanzan niveles aglutinantes muy altos sobre todo a la concentración de .25%.

REPRODUCTORA LIGERA DE DESECHOS

- La hemoaglutinación y sedimentación es más evidente comparada con los eritrocitos de ave recién nacido o de 7 semanas aunque el título sea menor.

BOVINO.

- No se obtiene altos títulos hemoaglutinantes de la diálisis, sin embargo a 25 c es estable y se define bien aglutinación y la sedimentación.
- Cuando se utilizó AEPO no fue la reacción de hemoaglutinación.

EQUINO.

- En antígeno de EPO hubo ligera respuesta en las primeras diluciones en concentraciones de .5, .75 , 1% sin embargo siempre existen eritrocitos en el fondo de los pozos a partir de los 3 minutos este comportamiento fue similar con los eritrocitos de bovino.
- Los títulos más estables a 25 c.
- Los títulos tienden a ser más altos a 25 c.
- a 37 c en concentraciones de .25% se obtienen resultados hemoaglutinantes y de sedimentación.

PERRO

- La hemoaglutinación es muy inestable aun a 25 c.
- A pesar de que existen valores continuos entre los 45 minutos 1.15 hrs. en las concentraciones de .5, .75 1% las aglutinaciones no son muy claras debido a que existen globulos rojos en el fondo de los pozos.

HUMANO TIPO B.

- La aglutinación y sedimentación es muy evidente.
- Con AEPO se obtienen titulos altos.

CUYE.

- Existe menor estabilidad en la hemoaglutinación cuando se utilizan concentraciones del 1% cuando se colocan a 37 c.
- La sedimentación es en forma de anillo cuando se utilizan placas con fondo en "U" existiendo la duda de tratarse se sedimentación o una aglutinación parcial, por lo que es recomendable usar placas con fondo 'V'.

ANTIGENO DE CULTIVO CELULAR

- La aglutinación con .25 % de glóbulos rojos solo fue evidente en ave reproductora bovino en el resto de las especies solo se observó turbidez e inclusive en los pozos que contenían solamente eritrocitos.
- A las 24 horas en las concentraciones de .75 1% solamente los eritrocitos de cuye y de pollo de 7 semanas tuvieron titulo aglutinante.
- El pollo de 7 semanas y en el ave reproductora, a pesar de ser la misma especie, se obtuvieron títulos hemoaglutinantes más altos en el primero inclusive a las 24 horas sin embargo se puede visualizar mejor la reacción en ave adulta.
- En la concentración de .5% en el caso de ave reproductora, bovino, equino, cuye, solo disminuye un logaritmo (log 2) en el lapso de 24 hrs. Permaneciendo el titulo en los eritrocitos de humano tipo B y pollo de 7 semanas y en el perro se perdió el título y no se observó reacción en conejo y cerdo.

ANTIGENO DE EPO.

- La aglutinación solo fue evidente con los eritrocitos de ave reproductora en la concentración de .25% aun después de 24 hrs.
- El título hemoaglutinante mantiene después de 24 hrs. en eritrocitos de humano de tipo B, pollo de 7 semanas cuye al .5% siendo estos últimos títulos muy altos.
- En los eritrocitos de bovino y equino no fue evidente aglutinación al utilizar el antígeno proveniente de embrión de pollo, sin embargo la aglutinación fue muy clara cuando se utilizó antígeno proveniente de cultivo celular y el antígeno

de cultivo celular.

- La hemoaglutinación con (AEPO) es más estable a las 24 hrs. aun en concentraciones de .75% y 1%, esto no se presentó con el antígeno proveniente de cultivo celular.

ANTIGENO DIALIZADO

- Glóbulos rojos de equino al 25% la sedimentación no se observa en la 2 primeras horas, pero se obtienen un título alto a las 24 hrs.

- El título hemoaglutinante se mantiene estable a las 24 hrs. al .5% en los eritrocitos de humano tipo B, pollo de 7 semanas y cuye, disminuyendo un logaritmo ($\log 2$) en ave reproductora, bovino, y equino; se pierde en el perro.

- Bajo las condiciones de dializado no se observó hemólisis por parte del virus y si un título hemoaglutinante superior.

CONCLUSIONES .

- De las especies antes evaluado no es recomendable utilizar para determinar títulos hemoaglutinantes; las especies de conejo, cerdo, perro, ave joven.

- Es recomendable utilizar globulos rojos de cuye, ave adulta, bovino, equino sobre todo cuando se obtiene de cultivos celulares.

- Los títulos hemoaglutinantes son diferentes a los 30, 60, 120 minutos y 24 hrs. En eritrocitos de ave se pueden leer desde los 30 minutos, en cuye a partir de la hora en las otras especies a los 45 minutos.

- Los títulos hemoaglutinantes son diferentes a los 25 c y 37 c siendo más estables a 25 c.

- Los titulo hemoaglutinantes son diferentes si se obtienen de cultivo celular o de embrión de pollo y su comportamiento en cada una de las especies evaluadas es diferente. Con AEPO son muy altos, con eritrocitos de cuye y ave y nulos con cerdos, conejo, bovino y equino.

- Las concentraciones al .5% generan un título hemoaglutinante superior a un logaritmo base 2 comparando con concentraciones del .75% o de 2 logaritmos cuando se utilizan concentraciones al 1%.

- La diferencia en el título puede ser hasta de 4 o 5 logaritmos como sucedio con los eritrocitos de ave reproductora y con antígeno de embrión de pollo.

- Los títulos son más estables aun después de las 24 hrs. cuando se utilizan concentraciones al .5% .

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Moreno L.J, Correa, G.P. Martinez, L.A. and Erics, A: Characterization of Paramyxovirus isolated from brain of a piglet in Mexico. Arch. Virol 91.: 221-231. (1986).
- 2.- Sthepano, H.A. y Gay, C.M.J.: Sindrome de ojo azul en cerdos. Avances en enfermedades del cerdo Ed. Morilla, Correa, Sthepano p. 299-311 (1985).