

SITUACIÓN ACTUAL DE LA ENFERMEDAD DEL OJO AZUL EN MÉXICO

Sánchez Betancourt J. Ivan, Mendoza Elvira Susana, Reyes Leyva Julio, Doporto Díaz José Miguel, Trujillo Ortega Ma. Elena

Los primeros casos de esta enfermedad se identificaron en 1980 en granjas porcícolas de La Piedad, Michoacán; en las que se presentaron signos clínicos nerviosos principalmente en lechones menores a 30 días de edad. En 1980 se reportaron brotes en los estados de Jalisco y Guanajuato, en 1983 en el D.F., Nuevo León, Hidalgo, Tlaxcala, Tamaulipas, Puebla, Campeche y Querétaro. Desde su aparición ha sido un problema de difícil control y su difusión abarcó hasta 1992, 16 estados de la República Mexicana (Fuentes *et al.*, 1992). En el año 2004 se realizó un estudio de seroprevalencia hacia el Rubulavirus porcino, en donde se encontraron 18 estados con una prevalencia del 10 al 30% (Milián *et al.*, 2004). La enfermedad del ojo azul afecta a cerdos de todas las edades y es provocada por un virus del género Rubulavirus de la Familia *Paramyxoviridae* (Ramírez *et al.*, 1997).

SIGNOLGÍA CLÍNICA OBSERVADA A TRAVÉS DE LOS AÑOS

En 1980 los lechones afectados fueron casi exclusivamente los menores a 15 días de edad, observando fiebre, pelo erizado y lomo arqueado, algunas veces acompañado por constipación o diarrea. Posteriormente había signos nerviosos tales como ataxia, debilidad, rigidez principalmente en las patas traseras, temblores musculares y posturas anormales, como posición de perro sentado (Stephano, 2000; Taylor, 1999).

A partir de 1983 se observaron brotes severos de encefalitis y signos respiratorios con mortalidad hasta del 30% en cerdos de 15 a 45 Kg de peso (Stephano *et al.*, 1985). En este año también se hizo evidente la falla reproductiva cuando se realizó una evaluación sobre los parámetros afectados y se identificó un aumento de repeticiones, mortinatos y fetos momificados, y un ligero aumento de abortos (Stephano y Gay, 1984; Stephano y Gay, 1985).

En 1988 se observó orquitis, epididimitis y atrofia testicular con severas alteraciones en la calidad del semen, asociados a la infección por el paramixovirus de ojo azul. Para

este año en lechones nacidos bajo un brote, la morbilidad era del 20 a 50% y la mortalidad oscilaba entre el 89 y 90% (Campos y Carbajal, 1989).

En 1998 se observaron casos severos de esta enfermedad asociados con el virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino (VPRRS), donde los parámetros reproductivos mostraron alteraciones más severas que con el Rubulavirus o VPRRS solos. En cerdas gestantes se observó anorexia, en algunas, opacidad corneal y la falla reproductiva afectó diferentes parámetros por 2 a 11 meses, con una media de cuatro meses. Disminuyó el número de lechones nacidos vivos (LNV), aumentó el número de fetos momificados y la mortalidad en lechones, y por lo tanto el número de lechones destetados se redujo dramáticamente. También hay marcado incremento en mortinatos y fetos momificados, lo que consecuentemente causa reducción en el número de nacidos vivos y posteriormente en el número de nacidos totales (Stephano, 2000, Sánchez BJI., *et al.* 2004).

También existen reportes de animales que presentan signología respiratoria como disnea, tos y estornudos, asociados a la enfermedad del ojo azul, pero están asociados a problemas infecciosos bacterianos. Sin embargo se han realizado aislamientos virales a partir de pulmón y otros órganos (Sánchez –Betancourt *et al.*, 2002).

PATOGENIA VIRAL

El virus se transmite a otros animales por la aspiración de microgotas contaminadas cuando éste es eliminado a través de descargas nasales (Collier y Oxford, 2000; Iorio *et al.*, 1986; Bowden *et al.*, 2001; Chua *et al.*, 2000), siendo la ruta natural de infección la nasofaringe. Cuando la gota es muy grande queda atrapada en la mucosa oronasal y el virus busca una célula susceptible para replicarse, cuando las gotas son muy pequeñas el virus ingresa con la aspiración y se localiza en los conductos aéreos inferiores (Collier y Oxford, 2000).

La multiplicación inicial del virus se lleva al cabo en la mucosa nasofaríngea y el tejido linfático asociado, después se disemina por vía aérea a bronquios y pulmones en donde se vuelve a replicar y de ahí se disemina a todo el organismo por vía sanguínea (Reyes

–Leyva, 2004; Stephano *et al.*, 1988; Allan *et al.*, 1996; Ramírez-Herrera *et al.*, 1997). El ingreso del virus al sistema nervioso central ocurre a través de las terminaciones nerviosas que se encuentran en la porción olfatoria de la mucosa nasal, el virus asciende por los nervios olfatorios a los lóbulos olfatorios y al hipocampo, de aquí se disemina al tallo cerebral y cerebelo donde se replica abundantemente (Allan *et al.*, 1996; Ramírez-Herrera *et al.*, 1997; Reyes-Leyva *et al.* 1997). Aunque, hay propuestas de que el virus ingresa al sistema nervioso por vía sanguínea atravesando la barrera hematoencefálica (Allan *et al.* 1996).

Durante la fase de viremia el virus se transporta asociado a eritrocitos y monocitos, lo que le permite producir una infección sistémica y replicarse en sitios inmuno privilegiados de órganos linfáticos y reproductores (Reyes-Leyva, 2004; Hernández *et al.*, 1998).

PREVENCIÓN Y CONTROL

Para el control o eliminación de la enfermedad del ojo azul son necesarias varias acciones que dependerán del tipo de granja. En el pié de cría es necesario no mezclar animales de diferentes corrales, eliminar cerdos que presenten la signología clínica característica, evaluar a todos los sementales de la granja y eliminar aquellos que sean positivos a la enfermedad serológica o clínicamente, utilizar inseminación artificial por lo menos por seis semanas, intensificar el diagnóstico de gestación, con machos y ultrasonido en todas las hembras, incrementar el número de servicios en la medida que se incrementen las repeticiones, cerrar la granja por lo menos durante 16 semanas (Campos y Carbajal, 1989).

En el área de lactancia es necesario evitar el estrés, reducir el manejo de animales, no mezclar lechones, mantenerlos secos y a la temperatura adecuada, de acuerdo a su edad, sacrificar a lechones enfermos, manejar las salas “todo dentro – todo fuera”, lavar y desinfectar, salas y corrales, cuando salgan todos los animales (Campos y Carbajal, 1989).

En el sitio dos y tres es necesario evitar el hacinamiento, cuidar la temperatura de acuerdo a la edad, cuidar la ventilación, no mezclar animales de diferentes edades u origen, actuar de forma inmediata en caso de que exista otra enfermedad (Campos y Carbajal, 1989).

IMPORTANCIA DE LOS ANTECEDENTES

Los antecedentes de la enfermedad nos permiten resumir que desde el año de 1980 el Rubulavirus porcino ha permanecido en el centro de la República Mexicana, provocando signología nerviosa, respiratoria y reproductiva, presentando combinaciones entre éstas, en animales de diferentes edades, generando millonarias pérdidas económicas en la zona Bajío y occidente de nuestro país (Sánchez *et al.*, 2003 y 2004a).

USO DE VACUNAS

Para prevenir la enfermedad se han desarrollado diversas vacunas (Correa *et al.*, 2001; Correa *et al.*, 2002; Iglesias *et al.*, 1994; Martínez *et al.*, 2001; Zenteno-Cuevas *et al.* 1997) con diferentes concentraciones de antígeno y con diversas metodologías de vacunación y de evaluación, sin embargo una constante en los resultados de estos estudios es “los anticuerpos generados por las vacunas propias son mas protectores que los anticuerpos generados por otras vacunas” y esto está asociado a la variabilidad genómica de los diferentes aislamientos que están en las diferentes vacunas, lo cual está comprobado con la investigación que se describe a continuación.

BIOGÍA MOLECULAR APLICADA AL RUBULAVIRUS PORCINO

La secuenciación del gen HN de diferentes aislamientos del Rubulavirus porcino, nos permitió identificar la variabilidad genética que presentan los virus actuales, con respecto al virus LPM obtenido en 1984 (Moreno-López *et al.*, 1994); ya que mediante ensayos inmunológicos se han reportado diferencias antigénicas (Reyes-Leyva *et al.* 2002; Sánchez *et al.*, 2004c, 2005 y 2006).

Bajo este esquema anteriormente descrito buscamos los siguientes objetivos planteados; el primero de ellos fue estudiar la variabilidad genómica del gen HN del Rubulavirus porcino, entre diferentes aislados virales obtenidos desde 1990 hasta el 2003 y el segundo objetivo planteado fue identificar la capacidad protectora de los anticuerpos que indiquen la variabilidad antigénica entre aislamientos virales.

Los virus utilizados fueron los siguientes:

Virus	Año de Aislamiento	Signología identificada	Número de acceso al GenBank
LPM	1984	Nerviosa	S77541
PAC2	1990	Nerviosa y Reproductiva	EF413172
PAC3	1992	Nerviosa y Reproductiva	EF413173
PAC4	1993	Nerviosa	EF413174
PAC6	2001	Respiratoria	EF413175
PAC7	2002	Respiratoria	EF413176
PAC8	2002	Nerviosa y Respiratoria	EF413177
PAC9	2003	Nerviosa y Respiratoria	EF413178

El primer paso fue obtener el RNA viral, del monoestrato de células infectadas que presentaron efecto citopático y hemoaglutinación; con la metodología descrita por Gibco Life Technologies, 1996. Se utilizó el RNA proveniente del paso anterior con la finalidad de obtener el DNA complementario (cDNA) y la amplificación del gen Hemaglutinin Neuraminidasa como se describe en artículos reportados anteriormente por nuestro grupo de trabajo (Sánchez BJI., *et al.* 2004). Se secuenció cada uno de los genes correspondientes a los virus PAC2, PAC3, PAC4, PAC6, PAC8 y PAC9, y se realizó una alineación incluyendo a los virus CI, CII, CIII y CIV, tomando como referencia al virus LPM aislado en 1984.

ENSAYO SEROLÓGICO

Se realizó el ensayo de virus sueroneutralización empleando la técnica descrita por Cowen y Hitchner (1975). Utilizando una cantidad constante de anticuerpos conocidos, en diferentes diluciones, confrontadas con el virus conocido homólogo y heterólogos a una concentración de 300 DICC_{50%}, usando el Rubulavirus porcino cepas PAC2, PAC3,

PAC4, PAC6, PAC8 y PAC9, confrontado con suero hiperinmune anti PAC4 y PAC9, debido a que éstas son las cepas más distantes genómicamente con las que contamos.

HALLAZGOS ENCONTRADOS

MUTACIONES

Al comparar los 1729 nucleótidos correspondientes al ORF del gen HN de cada uno de los aislamientos, se identificó que el virus PAC4, presentó un 99 % de similitud con respecto al virus LPM. El virus PAC3 presentó 24 mutaciones en diferentes puntos del genoma; el PAC2 tuvo 21 mutaciones; PAC6 y PAC7 presentaron 22 mutaciones exactamente en las mismas posiciones.

El virus PAC8 presentó un total de 20 mutaciones, de las cuales todas correspondieron a las que presentaron los virus PAC6 y PAC7.

El virus PAC9 presentó 21 mutaciones con respecto al virus de referencia.

El virus CIII presentó 23 mutaciones respecto al virus LPM, lo cual fue equivalente a un 2% de diferencia.

El virus CIV fue el que más mutaciones presentó respecto al virus de referencia aislado en 1984, siendo 36 nucleótidos los que difirieron.

El virus CI presentó 23 mutaciones similares al virus CIII, siendo el virus CII el que presentó 21 mutaciones, con un patrón similar al PAC 2 .

NÚMERO DE DIFERENCIAS Y PORCENTAJE DE SIMILITUD ENTRE LAS DIFERENTES SECUENCIAS DE NUCLEÓTIDOS

	LPM	PAC-8	PAC-6	PAC-2	PAC-3	PAC-4	PAC-9	PAC-7	C-I	C-II	C-III	C-IV
C-IV	36	42	40	30	30	34	41	42	27	30	29	-
C-III	23	29	27	19	19	21	28	29	4	7	-	98.3
C-II	23	29	27	20	20	21	28	29	5	-	99.5	98.2
C-I	21	27	25	17	17	19	26	27	-	99.7	99.7	98.4
PAC-7	22	0	2	28	30	20	3	-	98.4	98.3	98.3	97.5
PAC-9	21	3	3	27	29	19	-	99.8	98.4	98.3	98.3	97.6
PAC-4	2	20	18	18	22	-	98.9	98.8	98.9	98.7	98.7	98.0
PAC-3	24	30	28	4	-	98.7	98.3	98.2	99.0	98.8	98.9	98.2
PAC-2	20	28	26	-	99.7	98.9	98.4	98.3	99.0	98.8	98.9	98.2
PAC-6	20	2	-	98.4	98.3	98.9	99.8	99.8	98.5	98.4	98.4	97.6
PAC-8	22	-	99.8	98.3	98.2	98.8	99.8	100	98.4	98.3	98.3	97.5
LPM	-	98.7	98.8	98.8	98.6	99.8	98.7	98.7	98.7	98.6	98.6	97.9

PROTEÍNA HN

De los 576 aminoácidos (a.a) que codifican a la proteína HN, formada por los 1729 nucleótidos, se observa que los virus PAC6 y PAC7 tuvieron los mismos 12 aminoácidos diferentes respecto al virus LPM.

El virus PAC8 tuvo 11 aa diferentes con respecto al virus LPM. El virus PAC3 presenta 8 aa diferentes, de los 576; sin embargo, a nivel de bases fue el que presentó mayor número de mutaciones, después de CII.

El virus PAC4 presenta solo 1 aa diferente, ya que una de sus mutaciones fue silenciosa, siendo éste el más cercano al virus LPM.

El virus PAC2 presenta 9 aminoácidos diferentes con relación al virus de referencia, mientras que a nivel de bases presentó 20 mutaciones.

El virus PAC9 presentó 12 aa diferentes, junto con PAC6 y PAC7 fueron los que presentan mayor número de aminoácidos diferentes, sin embargo el virus CIV presenta 13 aminoácidos diferentes con respecto al virus LPM, siendo el CIV a nivel de nucleótidos y aminoácidos, el más variante.

Se observa que los virus PAC6 y PAC7 no presentaron ningún aminoácido diferente entre sí, lo cual equivale a un 100% de similitud.

En la primer columna de la Tabla 2, el virus CIV presenta 13 aminoácidos diferentes con respecto a al virus LPM, ocho aminoácidos diferentes hacia los virus C-III, C-II, PAC2 y PAC3, siendo los virus PAC6, PAC7 y PAC9 los que presentaron mayor número de aminoácidos diferentes con respecto al virus LPM, después del virus C-IV, el cual fue el virus que mas modificaciones tiene.

El virus C-I presentó seis aminoácidos diferentes con respecto al virus LPM y el virus PAC4 fue el más cercano, con solo un aminoácido diferente, siendo ambos los que presentan los dos mas altos porcentajes de similitud al virus LPM, 98.9% y 99.8% respectivamente.

El virus que mayor número de aminoácidos diferentes presentó fue el virus C-IV cuando fue comparado con los virus PAC6, PAC7 y PAC9, en donde se observa la mayor variabilidad en el número de aminoácidos alcanzando un 96.7% de similitud, lo cual equivalió a 19 aminoácidos diferentes.

NÚMERO DE DIFERENCIAS EN AMINOÁCIDOS Y PORCENTAJES DE SIMILITUD ENTRE LAS DIFERENTES SECUENCIAS

	LPM	PAC-8	PAC-6	PAC-2	PAC-3	PAC-4	PAC-9	PAC-7	C-I	C-II	C-III	C-IV
C-IV	13	19	18	11	11	12	19	19	9	12	11	-
C-III	8	14	13	6	6	7	14	14	4	7	-	98.0
C-II	8	14	13	7	7	7	14	14	5	-	98.7	97.9
C-I	6	12	11	4	4	5	12	12	-	99.1	99.3	98.4
PAC-7	12	0	1	14	14	11	2	-	97.9	97.5	97.5	96.7
PAC-9	12	2	3	14	14	11	-	99.6	97.9	97.5	97.5	96.7
PAC-4	1	11	10	7	7	-	98.0	98.0	99.1	98.7	98.7	97.9
PAC-3	8	14	13	0	-	98.7	97.5	97.5	99.3	98.7	98.9	98.0
PAC-2	8	14	13	-	100	98.7	97.5	97.5	99.3	98.7	98.9	98.0
PAC-6	11	1	-	97.7	97.7	98.2	99.4	99.8	98.0	97.7	97.7	96.8
PAC-8	12	-	99.8	97.5	97.5	98.0	99.6	100	97.9	97.5	97.5	96.7
LPM	-	97.9	98.0	98.6	98.6	99.8	97.9	97.9	98.9	98.6	98.6	97.7

CAMBIOS EN EL POTENCIAL ELECTROSTÁTICO

Se realizó un análisis del potencial electrostático de las moléculas virales con la finalidad de identificar cambios de carga generados por los cambios de aminoácidos y se encontró lo siguiente; El virus PAC3 presentó un aminoácido diferente (T223) con respecto a los virus LPM, PAC9 y C-IV (A223) lo cual modificó de carga positiva (azul) a carga negativa (rojo). El aminoácido E456 de PAC9 presenta carga negativa, lo cual generó que en una zona altamente positiva, como se observa en las tres moléculas restantes (LPM, PAC3 y C-IV), haya una modificación a carga neutra, la cual se observa de color blanco (Figura 3) (Sánchez-Betancourt *et al.* 2008).

Los virus PAC9, C-IV y LPM presentan el aminoácido A291 que representa una zona positiva, la cual se observa de color azul, sin embargo el aminoácido cambió en la molécula PAC3 a D291, lo cual generó que esa región se volviera negativa (Sánchez-Betancourt *et al.* 2008).

El virus PAC9 tiene una zona altamente positiva en comparación con LPM, PAC3 y C-IV, lo cual está generado porque presentó un cambio del aminoácido K514. Cabe destacar que PAC9 presentó cambio en dos aminoácidos en esa región (S511 y K514) que no presentaron los tres restantes, lo cual provocó que el cambio de ambos

aminoácidos generen una carga positiva en esa región (Sánchez-Betancourt *et al.* 2008).

Al identificar los cambios de aminoácidos del gen HN de los diferentes virus analizados, encontramos que de acuerdo a las predicciones de los epítopes realizadas por Zenteno-Cuevas (1997) con tres algoritmos diferentes de la secuencia del gen HN del virus LPM, sí existen mutaciones en regiones antigénicas o epítopes, que están generando cambios en la afinidad de los anticuerpos.

AFINIDAD DE LOS ANTICUERPOS

Las respuestas antígeno-anticuerpo obtenidas del ensayo de sueroneutralización utilizando antisuero PAC4 y PAC9 fueron los siguientes:

Cuando se confrontan los anticuerpos **PAC4** contra el virus PAC4 (reacción homóloga). Ante 2U de anticuerpos se presentó un 83% de protección; ante 4U de anticuerpos, de los 24 pozos infectados hubo una protección del 91.6%; ante 8, 16, 20 y 32 unidades de anticuerpos la protección fue del 100% de los pozos. Los anticuerpos generados por el virus PAC4 son capaces de proteger solo al 75% de los pozos confrontados contra el virus PAC2, a una concentración de anticuerpos de 16, 20 y 32. Contra el virus PAC3 los anticuerpos, generados por el virus PAC4 también protege al 83% de los pozos a 20 y 32 U.

Los anticuerpos obtenidos con el virus PAC4, aislado en 1984 a 20 y 32 unidades, generan una protección del 75% confrontados contra los virus aislados después del año 2000, es decir, contra los virus PAC6, PAC7, PAC8 y PAC9.

PORCENTAJE DE PROTECCIÓN DE LOS ANTICUERPOS GENERADOS CONTRA EL VIRUS PAC4

Unidades de Anticuerpos	PAC2	PAC3	PAC4	PAC6	PAC8	PAC9
2	58	58	83.3	58	58	58
4	58	58	91.6	58	58	58
8	66	75	100	66	58	58
16	75	75	100	66	66	66
20	75	83	100	75	75	66
32	75	83	100	75	75	75

La confrontación del **antisuero PAC9** contra su virus homólogo (PAC9) se observa en la Tabla 4, en donde ante 2, 4 y 8U de anticuerpos el porcentaje de pozos protegidos fue del 91%. La reacción a 16, 20 y 32U de anticuerpos protegió al 100% de los pozos. Estos anticuerpos (PAC9) confrontados con el virus PAC2, proveen del 83% de protección a 32U. Confrontados contra el virus PAC4 presenta 91% de protección a partir de una concentración de anticuerpos de 16U. A 16 U de anticuerpos PAC9 es suficiente para proteger al 100% de los pozos expuestos con 16U de anticuerpos.

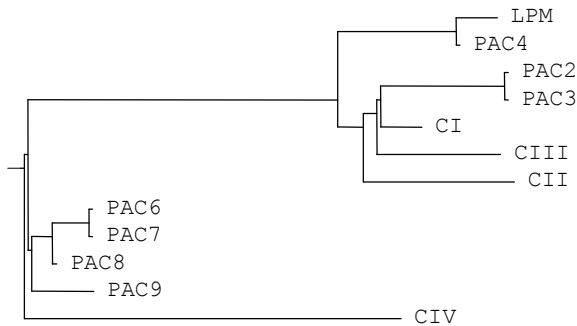
PORCENTAJE DE PROTECCIÓN DE LOS ANTICUERPOS GENERADOS CONTRA EL VIRUS PAC9

Unidades de Anticuerpos	PAC2	PAC3	PAC4	PAC6	PAC8	PAC9
2	58	66	66	75	75	91
4	58	66	66	75	75	91
8	66	66	75	83	83	91
16	75	75	91	100	100	100
20	75	83	91	100	100	100
32	83	83	91	100	100	100

Con este estudio podemos identificar que los aislamientos virales son representados gráficamente de acuerdo al año de su aislamiento, en donde los virus obtenidos antes de 1993 se encuentran mas ligados al virus LPM, aislado en 1984, con respecto a los cuatro virus aislados en los últimos 4 años, indicando que las mutaciones han derivado de un ancestro común.

El virus PAC4 es la primer variante del virus LPM; los virus PAC2 y PAC 3 son variantes similares al virus LPM y PAC4, sin embargo el resto de los aislamientos virales se observan filogenéticamente mas distantes que los anteriores, en donde PAC6 y PAC7 son iguales y el virus PAC8 difiere muy poco de éstos, sin embargo, los tres forman un grupo diferente respecto al virus LPM. Se observa que el virus más distante es el PAC 9 aislado en el año 2003.

ARBOL FILOGENÉTICO REALIZADO A PARTIR DE AMINOÁCIDOS



Por otro lado podemos decir que las mutaciones de las diferentes variantes virales caen en sitios antigénicos, lo cual indica que la falta de reconocimiento de anticuerpos específicos hacia virus heterólogos (otra serovariedad) cuando son evaluados en las pruebas serológicas, está asociado a la variabilidad antigénica y a su vez, la falta de protección de las vacunas se asocia a la especificidad de los anticuerpos.

CONCLUSIONES

Con estos antecedentes podemos concluir que los cambios en el potencial electrostático de algunas zonas de las moléculas de los diferentes aislamientos virales, ocasionados por el cambio de los aminoácidos y representado por los resultados obtenidos en el ensayo antigénico, generan variabilidad antigénica entre los Rubulavirus porcinos secuenciados, quizá generada por una evolución natural del virus que está generando cepas con diferente patogenicidad y virulencia, de las cuales desconocemos la magnitud de dicha diversidad en nuestro país.

También sugerimos que las variantes del Rubulavirus porcino encontradas en esta investigación responden una gran cantidad de incógnitas que existen sobre el control de la enfermedad y la falta de protección por parte de las vacunas que hay en el mercado, también que, la protección conferida por las vacunas comerciales dependerá del tipo de antígeno que contenga, ya que se demuestra la deficiente capacidad protectora de los anticuerpos confrontados contra virus heterólogos, que comúnmente se detecta en la evaluación de las vacunas comerciales.

PERSPECTIVAS PARA EL MONITOREO Y CONTROL DE LA ENFERMEDAD

En este momento se está realizando un monitoreo de las cinco zonas porcícolas de nuestro país, con la finalidad de detectar la variabilidad viral y la diversidad antigénica de cada región, que a su vez nos permita implementar la producción de vacunas polivalentes que confieran una protección del 100% contra todas las cepas virales existentes en México.

LITERATURA RECOMENDADA

Allan GM, McNeilly F, Walker Y, Linné T, Moreno-Lopez, Hernández-Jáuregui P, Kennedy S, Carrol BP, Herron B, Foster JC, Adair B (1996). A sequential study of experimental porcine paramyxovirus (LPMV) infection of pigs: Immunostaining of cryostat sections and virus isolation. *J. Vet. Diagn. Invest.* 8:pp. 405-413.

Bowden TR, Westenberg M, Wang LF, Eaton BT, Boyle DS (2001). Molecular characterization of Menangle virus, a novel paramyxovirus which infects pigs, fruit Bats, and humans. *Virology* 283: 358-373.

Campos HR, Carbajal SM. (1989). Transtornos reproductivos de los sementales de una granja porcina de ciclo completo ante un brote de ojo azul. Mem 24th Congr Asoc Mex Vet Esp Cerdos, Morelia, México: 62-64.

Correa-Girón, Martínez LA, Solís HM, Pérez SJ, Coba AMA, Aguirre F. (2001) Antigenicidad de diferentes dosis de la vacuna vs la enfermedad del ojo azul (EOA) del INIFAP en cerdos con PRRS. Mem. XXXVII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Tuxtla, Gutierrez, Chiapas, México. Pg. 220.

Correa-Girón, Martínez LA, Pérez SJ, Coba AMA, Solís HM. (2002). Vaccinación against blue eye disease. In: Morilla-González A., Yoon K-J, and Zimmerman JJ, editors. *Trends Emerging Viral Infections of Swine*, 1st ed. By Iowa State Press, Ames, Iowa. Pgs:65-69.

Collier L, Oxford J (2000). Childhood infections caused by paramyxovirus. En: *Human Virology* Second Ed. Oxford University Press. pp. 75-81.

Fuentes RMJ, Gay GM, Herradora LMA, Retana RA. (1994). Evaluación de una vacuna experimental contra ojo azul en cerdos mediante las pruebas de inmunogenicidad, inocuidad, potencia y medición de la inmunidad pasiva en lechones. *Veterinaria México*; Vol.25:3.

Hernández J, Reyes-Leyva J, Zenteno R, Ramirez H, Hernández-Jáuregui P, Zenteno E (1998). Immunity to porcine rubulavirus infection in adult swine. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 64: 367-381.

Iglesias G, Rincón F, Vazquez B, Tapia J, Domínguez F (1994). Evaluación de una vacuna para la prevención de la enfermedad causada por el paramixovirus porcino. In: First Internacional Symposium upon Pig Paramixovirus. Puebla, Pue., México. 43-44.

Iorio RM, Borgman JB, Glickman RL, Bratt MA (1986). Genetic variation within a neutralizing domain on the haemagglutinin-neuraminidase glycoprotein of Newcastle disease virus. *J. Gen. Virol.* 67: 1393-1403.

Martínez LA, Solíz HM, Pérez SJ, Coba AMA, Correa GP, Aguirre F, Córdova LD. (2001) Evaluación en condiciones de campo de tres lotes diferentes de la vacuna del INIFAP contra la EOA: I) en cerdas reproductoras. XXXVI Congreso AMVEC. Qro. Pg. 70.

Milian SF, García CL, Anaya EAM (2004). Prevalencia de enfermedades de importancia económica de los cerdos en México. Memorias de la XL Reunión Nacional de Investigación Pecuaria Pg. 3.

Ramírez-Herrera MA, Mendoza-Magaña ML, Dueñas SH (1997). Experimental infection of swine and cat central nervous systems by the pig paramyxovirus of the blue eye disease. *Zentralbl. Veterinarmed.* [B] 44: 461-476.

Ramírez-Mendoza H, Hernández JP, Reyes LJ, Zenteno E, Moreno LJ, Kennedy S. (1997). Lesions in the Reproductive Tract of Boars Experimentally Infected with Porcine Rubulavirus. *J. Comp. Path.*, 117: 237-252.

Reyes-Leyva J, Santos G, Hernández J, Espinosa B, Borraz MT, Vallejo V, Zenteno E. Mecanismos moleculares de patogenicidad viral: Estudios con el rubulavirus porcino. En: Mensaje Bioquímico Volumen XXVI, 2002. Del Arenal P, Cea A, Rivero-Rosas H, Vázquez E (Eds.) Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM. México DF. Pp 99-127.

Reyes-Leyva J. García-Morales O, Santos-López G, Vallejo V, Ramírez-Mendoza H, Hernández J (2004). Detección de viremia en la infección experimental por Rubulavirus porcino. *Arch. Med. Vet.* 36 (1): 41-49.

Sánchez BJI, Doporto DJM, Trujillo OM, Reyes LJ, Becerra FA,. Alteraciones productivas en hembras reproductoras después de un brote de Ojo Azul. Memorias XXXIX Congreso AMVEC 2003. Guadalajara Jal. Mex. Pg. 251.

Sánchez BJI, Doporto DJM, Trujillo OM, Carreón NR, Reyes LJ, Becerra FA, Mendoza GR. Differences between porcine Rubulavirus isolations using Haemagglutination

Inhibition technique. Proceedings of the 18th International Pig Veterinary Society Congress. June 27-july 1, 2004c. Pg. 226. Hamburg, Germany

Sánchez BJI, Trujillo OME, Doporto DJM, Becerra AF. Identificación de las afecciones productivas en hembras reproductoras después de un brote de Ojo Azul. XXXIX Congreso Nacional, Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Cerdos (AMVEC), Julio, 2004a.

Sánchez BJI, Trujillo OME, Doporto DJM, Reyes LJ, Mendoza ES. Diagnóstico del Rubulavirus porcino (enfermedad del ojo azul) mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). XL Reunión Nacional de Investigación Pecuaria, Puebla. Pg.51. 25 de Nov. 2004b.

Sánchez BJI, Trujillo OME, Doporto DJM, Mendoza ES, Alonso MR, Becerra FA, Reyes LJ. XL. Cambios Genómicos en el ORF del Gen HN del Rubulavirus Porcino. Congreso Nacional de Veterinarios Especialistas en Cerdos. 2005. León, Guanajuato.

Sánchez BJI. Variantes del virus de Ojo Azul y sus implicaciones en el diagnóstico de la enfermedad. V Jornada Internacional de Producción Porcina, impartida en el Auditorio Alfonso Caso, en la torre II de Rectoría, Ciudad Universitaria, del 6 al 8 de abril del 2006.

Sánchez BJI, Alonso MR, Reyes LJR, Mendoza ES, Doporto DJM, Trujillo OME. Cambios genómicos en el ORF del gen HN del Rubulavirus porcino. IV Congreso Nacional de Virología. Llevado a cabo en Veracruz del 8-11 de marzo del 2006.

Sánchez BJI, Mendoza ES, Reyes LJ, Doporto DJM, Becerra FA, Trujillo OME. Identification of different variants of porcine Rubulavirus in Mexico. International Pig Veterinary Society. Llevado a cabo del 16-19 de Julio, 2006. Copenhagen, Dinamarca.

Sánchez-Betancourt BJI, G Santos, R Alonso, JM Doporto, H Ramirez, S Mendoza, J Hernández, J Reyes-Leyva, ME Trujillo. 2008 (in press). Molecular characterization of the hemagglutinin-neuraminidase gene of porcine Rubulavirus isolates associated with neurological disorders in fattening and adult pigs. Rev. Vet. Sci (2007), doi:10.1016/j.rvsc.2007.10.007.

Stephano HA and Gay GM. (1984). Experimental studies of a new viral Syndrome in pigs called "Blue Eye" Characterized by Encephalitis and corneal opacity. Proc 8th Int Congr Pig Vet Soc, Ghent. P.71.

Stephano HA (2000). La enfermedad del ojo azul. Signos clínicos y lesiones. En: Memorias del Simposium Internacional sobre Enfermedades Emergentes del Cerdo.

Stephano HA, Gay GM. (1985). El síndrome del Ojo Azul en granjas engordadoras. Mem 19th Congr Assoc Mex Vet Esp Cerdos. Mérida, México: 71-.74.

Stephano HA, Gay GM, Ramirez TC (1988). Encephalomyelitis, reproductive failure and corneal opacity (blue eye) in pigs, associated with a paramyxovirus infection. *Vet. Rec.* 122: 6-10.

Taylor DJ (1999). Rubulavirus infection and "Blue Eye". *Pig diseases* 7th ed.:54-55.

Zenteno-Cuevas R (1997). Purificación y predicción de determinantes antigénicos y de estructura secundaria en la hemaglutinina-neuraminidasa del paramixovirus porcino de La Piedad Michoacán. Tesis de Maestría, Facultad de Medicina, UNAM, México D.F.