



PERSISTENCIA DEL *RUBULAVIRUS PORCINO* EN SEMEN DE VERRACOS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE

*Rivera-Benitez, F¹., Martínez-Bautista, R¹., García, A²., Reyes-Leyva, J³., Hernández, J⁴., Ramírez-Mendoza, H¹.

¹Laboratorio de Virología, FMVZ-UNAM. ²UAM-X. ³CIBIOR-IMMS. ⁴CIAD. AC.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad del ojo azul (EOA), es un padecimiento provocado por el *Rubulavirus porcino*, afecta a cerdos de todas las edades (Stephano *et al.*, 1988). En verracos, el daño se presenta a nivel de tracto reproductor, ocasionando epididimitis y orquitis, disminuyendo la calidad seminal, llegando a provocar infertilidad (Ramírez-Mendoza *et al.*, 1997). La EOA puede cursar sin signos clínicos aparentes y las alteraciones en la calidad seminal no son del todo concluyentes. La excreción del RVP en semen ha sido demostrada en la fase inicial de la infección, sin embargo no se ha demostrado que el RVP pueda estar presente por periodos prolongados en la infección. El objetivo del presente estudio fue detectar la persistencia del RVP en semen de verracos durante periodos prolongados en la infección experimental.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales de experimentación. Se emplearon 9 machos porcinos híbridos Yorkshire × Landrace; con un rango de edad de 8-10 meses serológicamente negativos al RVP.

Virus de desafío. Se utilizó el aislamiento PAC3 del RVP el cual se ha caracterizado por provocar alteraciones reproductivas en hembras y daño testicular y epididimario en verracos (Ramírez-Mendoza *et al.*, 1997). Cada verraco fue infectado instilando por vía intranasal 5 ml de la cepa PAC3 del RVP a una dosis de 10⁵ DICC₅₀/ml.

Colecta de muestras. Se colectaron muestras sanguíneas y de semen durante cuatro semanas previas a la infección y por 20 semanas pi.

Pruebas serológicas. Las muestras sanguíneas se emplearon para la obtención de suero, el cual fue utilizado para pruebas de inhibición de la hemaglutinación y seroneutralización.

Aislamiento viral. Las muestras de semen fueron diluidas 1:5 en EMEM, se centrifugaron y fueron filtradas en membranas estériles de 0.22µm. La línea celular empleada para el aislamiento viral fue MDCK. Para la detección del virus se empleó la hemaglutinación e inmunofluorescencia indirecta.

RT-PCR. Se realizó la extracción del ARN de las muestras de semen y suero en columnas de sílica (Qiagen). El ARN obtenido fue cuantificado y se empleó para la amplificación de un fragmento de 375pb del gen N del RVP utilizando iniciadores específicos.

RESULTADOS

Serología. Se comprobó la seroconversión en todos los animales infectados. A partir de la segunda semana pi se identificaron anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación a título de 2.85 log₂ en promedio para el grupo, alcanzando su máximo pico en la novena semana

(5.0 log₂), posteriormente se conservan estables formando una meseta. Los anticuerpos neutralizantes contra el RVP fueron detectados al mismo tiempo que los anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación, el título obtenido fue de 4.33 log₂ en promedio en la segunda semana pi, casi el doble que en IHA. Se alcanzó un primer pico a las seis semanas (6.89 log₂), el título se mantuvo hasta la semana 19 en donde ocurrió un repunte importante (8.25 log₂).

Aislamiento viral. Se detectó aislamiento positivo por IFID a partir del quinto día pi y hasta el día 48 pi en semen de un verraco, en otros cuatro positivos osciló entre el día 8 y 29 pi, en tres animales no pudo ser recuperado virus con capacidad infectante en ninguna de las muestras de semen.

RT-PCR. En las muestras de suero sanguíneo, se pudo detectar el ARN del RVP a partir del segundo día y hasta el día 64 pi, la proporción de muestras positivas fue del 8.8% (11/125), solo se detectaron tres animales positivos. La distribución de las muestras positivas fue mas amplia en las primeras siete semanas pi, encontrando 10 de los 11 sueros, solo un animal presentó una muestra positiva el día 64 pi. No se detectaron sueros positivos en los animales restantes. En semen se detectaron muestras positivas a partir del segundo día y hasta los 142 pi, la proporción de muestras positivas por animal fue variable, en cuatro verracos solo fue detectado en una muestra (entre el día 13 y 23 pi). En general, la mayoría de las muestras positivas (82.75%) se distribuyen en las primeras siete semanas pi, excepto un verraco el cual presentó una muestra positiva el día 64 pi y uno más en el que se detectó hasta los días 67, 69, 97 y 142 pi.

DISCUSIÓN

La respuesta serológica frente a la infección fue similar a lo descrito previamente por Hernández *et al.* (1998), en el presente estudio se pudo observar un comportamiento estable en título de anticuerpos IHA y neutralizantes en la infección por un periodo prolongado. El aislamiento del RVP coincide con lo reportado por Solís *et al.* (2007), se encontraron muestras positivas hasta la sexta semana posinfección. No existen reportes previos de RT-PCR en suero y semen, los resultados obtenidos confirman que el ARN del RVP persiste en semen y el virus no es eliminado aun en presencia de anticuerpos neutralizantes, por lo tanto, los animales infectados, son un factor de alto riesgo para diseminar la EOA en la población porcina, ya sea por contacto directo o a través del uso de semen contaminado en la practica de inseminación artificial.

REFERENCIAS

Stephano *et al.*, 1988. *Vet. Rec.* 122:6-10. Ramírez-Mendoza *et al.*, 1997. *J. Comp. Path.* 117:237-52. Hernandez *et al.*, 1988. *Vet. Immunol. Immunopath.* 64: 367-381. Solís *et al.*, 2007. *Res. Vet. Sci.* 83: 403-409