

Inoculación del virus de la enfermedad del ojo azul en verracos de la raza Pelón Mexicano

Humberto Ramírez Mendoza*

Roberto Martínez Gamba*

Oscar Trinidad Vizuet Arriaga*

Juan Monrroy Basilio**

Abstract

Five Mexican Hairless boars were inoculated with Blue Eye Disease Rubulavirus in order to study clinical signs and pathologic findings in this breed. After inoculation by both intranasal and intramuscular routes clinical signs were observed in each boar daily. Subsequently, animals were slaughtered at 5, 10, 20, 30 and 45 days after inoculation. Samples were taken from tonsils, liver, lung, spleen, kidneys, mediastinic nodules, brain, testicles, epididymus, prostate, Cowper gland and seminal vesicles for histopathology and viral isolation. Clinical signs were evident after 15 days postinoculation. Corneal opacity and testicle edematization were observed 7 days after inoculation. The epididymus head presented granulomatous nodules at 20, 30 and 45 days post-infection. Some samples for viral isolation were positive at 5, 10, 20, 30 and 45 days.

KEY WORDS: Blue Eye Disease, Mexican Hairless Pigs.

Resumen

Se inocularon cinco cerdos adultos de la raza Pelón Mexicano con el rubulavirus porcino que causa la enfermedad del ojo azul, sacrificándolos a los 5, 10, 20, 30 y 45 días posinoculación para observar la secuencia semiótica y el tipo de las lesiones en cada una de ellos. Al momento de la necropsia se obtuvieron muestras de tonsillas, pulmón, hígado, bazo, riñón, nódulo linfático mediastínico, cerebro, testículo, epidídimo, próstata, vesícula seminal y glándula bulbouretral, con el fin de aislar al virus y determinar el momento en que se detectaba su presencia (en cultivo celular PK 15). La manifestación durante signos sólo ocurrió en los primeros quince días posinoculación. La opacidad de la córnea se presentó al séptimo día. La edematización del testículo izquierdo se observó entre el quinto y el décimo días. La cabeza de los epidídimos mostraron nódulos granulomatosos a los 20, 30 y 45 días posinoculación. Se pudo recuperar el virus de diferentes tejidos durante todo el periodo experimental.

PALABRAS CLAVE: Enfermedad del Ojo Azul, Cerdo Pelón Mexicano.

Recibido el 19 de septiembre de 1997 y aceptado el 14 de mayo de 1998.

*Departamento de Producción Animal: Cerdos, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México D.F.

**Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Microbiología, INIFAP-SAGAR, Km 15.5, Carretera Federal México-Toluca, 05110, México, D.F.

Introducción

En 1980 se presentaron los primeros estudios de la enfermedad de ojo azul^{1, 2, 3, 4}, la cual se define como un padecimiento asociado a una infección viral por un rubulavirus que provoca signos nerviosos, falla reproductiva y opacidad de la córnea^{5, 6}.

La enfermedad del ojo azul (EOA) se ha presentado únicamente en México, los principales estados productores de cerdos de la región central del país con mayor frecuencia tienen animales serológicamente positivos a la EOA^{7, 8}. Las pérdidas económicas que se producen en la piara por gastos en medicamentos, mortalidad en lechones y baja fertilidad, inciden negativamente en el costo de producción, esto último incide en los márgenes de utilidad de las empresas afectadas. Contrario a lo que se supone, no se tiene la suficiente información científica en relación con la EOA para conocer su patogenia; por lo tanto, se necesita indagar ampliamente sobre esta enfermedad. Las investigaciones realizadas hasta el momento se han encaminado, por una parte, al estudio de los problemas reproductivos en las hembras, donde se habla de índices de repeticiones de hasta 39%, así como aumento en el número de lechones nacidos muertos de hasta 24%⁹. Las manifestaciones clínicas en los lechones, se presentan con un cuadro nervioso y elevada mortalidad^{10, 11, 12, 13}. Lo anterior redonda que en la cerda y en los lechones se conocen más problemas ocasionados por la EOA, debido al número de parámetros que se evalúan en éstos^{14, 15}.

En cerdos mayores de 30 días de edad no hay mortalidad, se presentan signos respiratorios que van en aumento hasta el decimoprimer día después de la inoculación, acompañados con anorexia, apatía y opacidad de la córnea; además existe recuperación paulatina en la mayoría de los animales^{5, 16}. En informes previos se deduce que la EOA se autolimita y que la inmunidad del hato se adquiere naturalmente después de un brote, y persisten los anticuerpos hasta por 15 meses^{17, 18}. También en los machos adultos se han descrito esos signos, aunque los informes en esos casos han sido de trabajos de campo, donde las condiciones experimentales no fueron controladas^{19, 20, 21}.

En uno de esos trabajos se atribuye al verraco el bajo porcentaje de fertilidad que se presenta en las granjas afectadas por la EOA. Entre los signos que se describen están anorexia, fiebre, opacidad de la córnea, epididimitis, orquitis con posterior atrofia testicular. A la histología se han observado lesiones granulomatosas y necrosis en epidídimo²⁰. En otro estudio efectuado en una granja con 79 sementales, se concluye que el bajo porcentaje de fertilidad se debe al verraco infectado; en ese trabajo se describen fiebre de 40°C, anorexia, opacidad de la córnea, emaciación, orquitis de curso rápido y atrofia testicular en 25% de los sementales afectados, se destaca que en un lapso de 30 días se producen lesiones graves en epidídimo y testículo, conformadas histopatológicamente por inflamación, edema, degeneración hidrópica, hemorragias, necrosis y ausencia total de tejido epitelial¹⁹.

En otra investigación enfocada principalmente a evaluar las características andrológicas, se analizaron los daños producidos por un brote de EOA; se encontró que en 20% de los animales estudiados hay alteraciones tales como: la cabeza del epidídimo de consistencia fibrosa en 38.18% de los casos, con mayor frecuencia en el testículo izquierdo, también se describe que la cola del epidídimo era difícil de palpar²¹.

Por otra parte, es bien conocido que los animales de la raza Pelón Mexicano tienen características de resistencia y adaptabilidad mayores que las de los cerdos de razas mejoradas que existen en México, algunos autores coinciden en señalar que los cerdos Pelón Mexicano tienen mayor resistencia a las enfermedades^{22, 23, 24, 25}, si a lo anterior se auna la falta de estudios controlados sobre el efecto de la EOA en los verracos, se justifica el hecho de investigar dichos efectos en este tipo de cerdos, describiendo los signos y lesiones que produce el virus en machos adultos para cada lapso de la prueba y el momento en que es factible aislarlo de órganos.

Material y métodos

La investigación se llevó a cabo en el área de aislamiento del Departamento de Producción Animal: Cerdos, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Animales para experimentación

La investigación se realizó con cinco cerdos machos, de la raza Pelón Mexicano, mayores de 10 meses de edad, sanos y con títulos serológicamente negativos a la EOA. Dichos animales tuvieron un periodo de adaptación de 30 días. Cada cerdo se alojó individualmente y fue provisto de un ambiente adecuado, sin realizarse ninguna vacunación o medicación durante la prueba.

Procedimiento experimental

Después del periodo de adaptación se inoculó a los cinco cerdos por vía nasal e intramuscular con 3 mililitros (ml) de virus de ojo azul, cepa PAC-II (aislada en el Departamento de Producción Animal: Cerdos, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México), con un título de $10^{5.5}$ dosis infectantes en cultivo celular por ml; posteriormente los verracos fueron sacrificados en 5 diferentes lapsos: el primero (A) a los 5 días, el segundo (B) a los 10 días, el tercero (C) a los 20 días, el cuarto (D) a los 30 días y el quinto (E) a los 45 días, posinoculación. De cada animal se anotaron los signos posteriores a la inoculación del virus.

Al momento de la necropsia se realizó la inspección macroscópica de encéfalo, tonsillas, pulmón, hígado, bazo, riñón, vesículas seminales, próstata, glándulas bulbouretrales, testículos y epidídimo en sus tres porciones. Se describieron las lesiones encontradas y se tomaron muestras tanto para el aislamiento viral como

para los estudios histológicos.

Para el aislamiento viral cada muestra fue macerada en solución de Hank a un pH de 7.2, se centrifugó a 1000g durante 30 minutos, el sobrenadante fue filtrado utilizando una membrana estéril de 0.45μ , se emplearon $200\mu\text{l}$ para inocular los tubos de Leighton. Después de transcurridas 72 horas de incubación, se hizo hemoaglutinación (HA) y se evaluó el efecto citopático. También se tomaron muestras de leucocitos (obtenidos por gradientes de concentración), hisopos de exudado nasal, prepucial y de esfínter anal. Las técnicas empleadas para aislar al virus son de carácter cualitativo. Se consideró un aislamiento positivo: a) Efecto citopático positivo en cultivo celular inoculado, y b) hemaglutinación positiva del virus con los eritrocitos a partir del cultivo celular.

Para el examen histológico todos los tejidos fueron fijados en formalina al 10% amortiguada con fosfatos, posteriormente se procesaron mediante la técnica de inclusión en parafina para realizar cortes de 5μ de espesor y teñirlos con hematoxilina-eosina (H-E).

Resultados

Los signos que se manifestaron en el conjunto de animales consistieron en fiebre, depresión, anorexia, opacidad de la córnea, disminución o aumento del tamaño de los testículos y consistencia rígida a la palpación de la cola del epidídimo (Figura 1). Los cambios en el volumen testicular fueron más evidentes en el lado izquierdo. La presentación cronológica de los signos en cada cerdo se muestran en el Cuadro 1.

Las lesiones macroscópicas encontradas a la necropsia consistieron en opacidad corneal, diferencias en el tamaño testicular y nódulos granulomatosos en la cabeza del epidídimo. Se observó en los cinco cerdos ligera hemorragia a nivel de meninges y cerebro (Cuadro 2).



Figura 1. Testículos con diferente tamaño. Animal sacrificado en el día 30 de infección.

Cuadro 1

Presentación cronológica de la semiótica posinoculación de la enfermedad del ojo azul a diferentes lapsos en cada cerdo pelón mexicano

	Cerdo A	Cerdo B	Cerdo C	Cerdo D	Cerdo E
Sacrificio	5 días	10 días	20 días	30 días	45 días
Fiebre	Día 2	Día 3	Día 3		
Depresión	Día 2	Día 3	Día 3		
Anorexia	Día 2	Día 3	Día 3		
Edematización escrotal			Día 10		
Alteración del tamaño testicular		Día 7	Día 9	Día 12	Día 10
Opacidad corneal			Día 7		
Ausencia de signos				Día 14	Día 14
					Día 11

Cuadro 2

Frecuencia cronológica de las lesiones macroscópicas en cerdos pelón mexicano inoculados con rubulavirus de la enfermedad del ojo azul

Lesiones	Cerdo A	Cerdo B	Cerdo C	Cerdo D	Cerdo E
	5 días	10 días	20 días	30 días	45 días
Congestión en meninges y superficie de encéfalo	+	+	+	+	+
Nódulos granulomatosos en la cabeza de los epidídimos				+	+
Edema de la córnea			+		
Edema escrotal	+	+			
Congestión generalizada de los órganos viscerales		+			
Congestión en las tonsillas				+	
Hemorragias petequiales en riñones					+



Figura 2. Cabeza de epidídimo de un animal sacrificado en el día 30 de infección. A la derecha se observa un tubulo de epidídimo no afectado. A la izquierda se observa un granuloma espermático. Tinción con H.E. 100x.

Cuadro 3

Frecuencia cronológica del aislamiento viral a partir de órganos de cerdos perlón mexicano, inoculados con rubulavirus de la enfermedad ojo azul, sacrificados a diferentes lapsos

Órgano	Cerdo A	Cerdo B	Cerdo C	Cerdo D	Cerdo E
	5 días	10 días	20 días	30 días	45 días
Tonsila	-	+	+	+	
Pulmón	-				
Hígado	-			+	
Riñón	-		+		
Cerebro	-	+			
Testículo	-			+	
Cabeza de epidídimo	-	+	+		+
Cuerpo de epidídimo	-	+		+	
Cola de epidídimo	-	+	+		
Próstata	-		+		
Vesícula seminal	-				
Glándula bulbouretral	-	+	+	+	+

El aislamiento viral a partir de cada órgano para cada cerdo se muestra en el Cuadro 3.

El aislamiento viral a partir de leucocitos, hisopos con exudado nasal, prepucial y de heces del esfínter anal resultaron negativos.

Los resultados del examen histológico indican que hubo algunos cambios degenerativos e inflamatorios en varios órganos. En los animales sacrificados a los 20, 30 y 45 días de la inoculación, se encontraron en la cabeza del

Cuadro 4
Lesiones microscópicas en cerdos perlón mexicano
inoculados con rubulavirus del ojo azul

Lesión	Cerdo A 5 días	Cerdo B 10 días	Cerdo C 20 días	Cerdo D 30 días	Cerdo E 45 días
Epididimitis granulomatosa	-	-	++	++	++
Encefalitis no supurativa	+	-	-	-	-
Neumonía linfoproliferativa	+	-	-	-	-
Células intersticiales en testículo	-	-	+	+	++
+ Lesión leve					
++ Lesión moderada					

epidídimo varios focos de diferentes tamaños, compuestos en la parte central por necrosis licuefactiva y rodeados por tejido conjuntivo fibroso e infiltrado mixto de células inflamatorias, predominantemente linfocitos, neutrófilos con células plasmáticas y células gigantes multinucleadas (Figura 2). A nivel de las células epiteliales de los túbulos seminíferos se observaron varios estadios de degeneración; el citoplasma con vacuolas, núcleos picnóticos con cromatina granular.

En el cerdo sacrificado a los 5 días se observó a nivel de la corteza cerebral leve infiltrado de linfocitos multifocal a nivel perivascular, gliosis difusa y congestión meningea. En el corte de pulmón se encontró moderado infiltrado de linfocitos peribronquial y peribronquiolar, congestión moderada de capilares y algunas áreas enfisematosas subpleurales.

En los animales sacrificados a los 20, 30 y 45 días se observó en los cortes de testículo abundantes células intersticiales, en el resto de los órganos no se observaron cambios patológicos específicos (Cuadro 4).

Discusión

Los cerdos adultos de la raza Pelón Mexicano fueron susceptibles a la inoculación con el rubulavirus de ojo azul. Los signos presentados en los animales tienen similitudes con los que se han visto en otras investigaciones y con otro tipo de cerdos.^{5,16,19,20,21} Se estableció una relación directa entre la semiótica y los cambios histológicos. Despues de la inoculación aparece un estado febril aproximadamente a las 24 horas, seguido por depresión y anorexia, fenómenos que ya no se observan a partir de los 15 días posinoculación. Al séptimo día después del desafío se observó la opacidad de la córnea en uno de los animales; esta observación coincide con la que realizaron Campos y Carbajal,¹⁹ quienes hacen referencia de este signo en 1.2% de los animales infectados y en 4.1% del total de sementales de los casos que ellos

estudiaron.

De acuerdo con ese concepto, en el presente experimento correspondió a 20% con los Pelones Mexicanos.

Campos y Carbajal¹⁹ al igual que Stephano *et al.*²⁰ notifican casos de orquitis de curso rápido en sementales híbridos. En los Pelones Mexicanos se pudo apreciar edematización en los primeros días de infección, después se observó rigidez y aumento en el tamaño del epidídimo, este signo constituye la evidencia de que tanto el testículo como el epidídimo son órganos blanco para el virus.

En relación con la atrofia testicular, los datos mencionados por Zermeño²¹ acerca de esta patología, así como los obtenidos en el presente estudio, coinciden al señalar que aquella se manifiesta más frecuentemente del lado izquierdo, en este sentido se difiere de Campos y Carbajal,¹⁹ quienes la describen en 10% de los sementales afectados.

Las lesiones que se encontraron en el aparato reproductivo, como son la atrofia testicular y los granulomas en epidídimo, pueden justificar la baja fertilidad que describen otros estudios^{19,20,21} esto último coincide en que dichas lesiones granulomatosas siempre se han mencionado con referencia a la cabeza de los epidídimos.^{19,21}

Stephano y Gay¹⁶ hacen referencia a la ausencia de mortalidad cuando los cerdos rebasan la edad de 30 ó 45 días de edad, tal como resultó con los Pelones Mexicanos.

Los resultados positivos en todas las muestras seleccionadas a partir de los posteriores sacrificios, destacan dos aspectos importantes: El primero sugiere que los órganos en los que se optó por aislar al virus son afines a éste. Esto indica que existen los suficientes receptores de membrana celular para la ubicuidad del mismo.

El segundo aspecto importante es la presencia del virus hasta los 45 días de infección. Esto indica una manifestación de hipersensibilidad del tipo IV, sin la demostración de otros signos evidentes y con una respuesta humoral prolongada como se menciona en un estudio previo¹⁷. Esto permite observar que el verraco es portador del virus por un periodo prolongado; sin embargo, mientras no se cuente con resultados determinantes de su diseminación por orina, heces y exudado nasal, el aislamiento viral a partir del aparato reproductivo atribuye un fundamento en la explicación de la transmisión viral.

En otros informes se ha descrito que se han encontrado hemorragias de tipo petequial en los riñones de lechones y cerdos^{6,20}. En esta investigación, el cerdo que se sacrificó a los 45 días después de la infección presentó esas hemorragias.

Se concluye que el cerdo Pelón Mexicano incurre como portador al menos durante 45 días posteriores a la inoculación, manifiesta fiebre, anorexia, depresión en los primeros 15 días y edema corneal, atrofia testicular y granulomas en epidídimo. Se destaca que posteriormente a esos 15 días sólo se aprecian las lesiones o secuelas, pero ningún signo.

Referencias

- Rosales EF, Correa GP. El síndrome del ojo azul. Téc Pecu Méx 1989;27:101-116.
- Stephano HA. Síndrome del ojo azul en cerdos I. Sínt Porcina 1985;4:42-49.
- Stephano HA. Síndrome del ojo azul en cerdos II. Sínt Porcina 1985;4:9-14.
- Stephano HA. El Síndrome del ojo azul y la investigación. Sínt Porcina 1986;5:14-24.
- Stephano HA, Fuentes RM, Hernández JP, Herradora LM, Carreón NR. Encefalitis y opacidad de la córnea en cerdos destetados, inoculados experimentalmente con el paramyxovirus del ojo azul. Memorias del XXIII Congreso de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos; 1988 julio 20-24; León, Guanajuato. México (DF): Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, 1988:90-92.
- Stephano HA. Blue eye disease. In: Leman AD, Straw B, editors. Diseases of swine. 7th ed Ames (IO): Iowa State University Press, 1992:237-241.
- Carreón NR, Fuentes RM, Stephano HA, Ramírez MH. Estudios preliminares del paramyxovirus del ojo azul en la república mexicana. Memorias del Curso de Actualización de Enfermedades Vírales del Cerdo; 1989 abril 14 y 15; México (DF). México (DF): Asociación Mexicana de Veterinaria Especialistas en Cerdos, 1989:72-82.
- Fuentes RM, Carreón NR, Stephano HA, Trujillo MO. Frequency of blue eye paramyxovirus antibodies in Mexican pigs. Proceedings of the International Pig Veterinary Society 11th Congress; 1990 July 1-5; Lausanne, Switzerland. Lausanne Switzerland: International Pig Veterinary Society, 1990:274.
- Stephano HA, Gay GM, Ramírez TC. Encephalomyelitis, reproductive failure and corneal opacity (blue eye) in pigs associated with a paramyxovirus infection. Vet Rec 1988;122:6-10.
- Rosales EF, Correa GP. El síndrome del ojo azul I. Avanc Med Vet 1990;3:99-103.
- Rosales EF, Correa GP. El síndrome del ojo azul II. Avanc Med Vet 1990;3:133-138.
- Stephano HA, Gay GM, Ramírez TC, Maqueda JA. Estudio de un brote de encefalitis en lechones por un virus hemoaglutinante. Memorias de la XVII Convención de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos; 1981 julio 1-5; Ixtapa (Gro). México (DF): Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, 1981:46-47.
- Stephano HA, Gay GM. El síndrome del ojo azul en cerdos. En: Morilla A, Correa PG editores. Avances sobre enfermedades del cerdo. México (DF): Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, 1985:299-311.
- Hernández ML. Evaluación de los parámetros reproductivos del ganado porcino en la región del altiplano. (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1989.

15. Stephano HA, Gay GM. El síndrome del ojo azul, una nueva enfermedad en cerdos asociada a un paramixovirus. *Vet Méx* 1986;17:120-122.
16. Stephano HA, Gay GM. El síndrome del ojo azul en granjas engordadoras del Bajío. *Memorias de la Reunión Pecuaria en México 1985 noviembre 27-29; México (DF)*. México (DF): Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1985;94.
17. Stephano HA, Doperto JM, Gay GM. Estudio epidemiológico en dos granjas porcinas infectadas por el síndrome de ojo azul. *Proceedings of the International Pig Veterinary Society 9th Congress*; 1986 julio 10-14; Barcelona, España. Barcelona, España: International Pig Veterinary Society, 1986:455.
18. Velasco SR. Efecto de la vacuna de pseudorrabia en un brote de la enfermedad del ojo azul. *Memorias del XXIII Congreso de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos*; 1988 julio 20-24; León (Gto). México (DF): Asociación Mexicana de Veteterinarios Especialistas en Cerdos, 1988:65-66.
19. Campos HR, Carbajal SM. Trastornos reproductivos en los sementales de una granja porcina de ciclo completo ante un brote de ojo azul. *Memorias del XXIV Congreso de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos*; 1989 julio 19-22; Morelia, Michoacán. México
- (DF): Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos 1989:62-64.20. Stephano HA, Hernández D, Pérez C, González CT, Ramírez MH, Cervantes A. Boar infertility and testicle atrophy associated with blue eye paramyxovirus infection. *Proceedings of the International Veterinary Society 11th Congress*; 1990 July 1-5; Lausanne, Switzerland. Lausanne, Switzerland: International Pig Veterinary Society: 1990:456.
21. Zermeño MF. Evaluación de las características testiculares y seminales después de un brote de la enfermedad del ojo azul por paramyxovirus en verracos (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1994.
22. Cárdenas PC. Introducción al estudio zoométrico del cerdo pelón mexicano (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1966.
23. Flores MJ, Agras GA. Ganado porcino. 3a. ed. México (DF): Limusa, 1986.
24. Robles RG. Contribución al estudio de los cerdos lamiños o pelones mexicanos (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1967.
25. Romero JR, Gómez R. Establecimiento de una piara de pelón mexicano. *Prod Anim Trop* 1980;5:1-3.