

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DEL VIRUS DE LA ENFERMEDAD DE AUJESZKY O PSEUDORRABIA EN MEXICO

M.V.Z. MARIO MARTELL D. ¹
M.V.Z. RAÚL ALCOGER B. ¹
M.V.Z. FERNANDO CERÓN M. ¹
M.V.Z. JOSÉ LUIS LOZANO S. ¹
M.V.Z. PABLO DEL VALLE P. ¹
M.V.Z. ANA MA. AURÓ A. ¹

Resumen

Se presentó un brote de la enfermedad de Aujeszky o pseudorrabia en bovinos del estado de Guerrero, México. El virus fue aislado a partir del cerebro de un bovino enfermo y se logró reproducir la enfermedad en conejos. La tipificación final se logró por sueroneutralización con suero hiperinmune del National Animal Disease Laboratory (N.A.D.L.),² comprobándose así la presencia de esta enfermedad en México.

La enfermedad de Aujeszky (E.A.) es una entidad nosológica de etiología viral que afecta en forma natural a vacas (Aujeszky, 1902, según Dow y Mc Ferran, 1962 y Mc Ferran y Dow, 1964), caballos, ovejas, cabras, perros y gatos (Knösel, 1968 y Sabö *et al.*, 1968), además de otros animales silvestres, provocando cuadros clínicos caracterizados por prurito, automutilación, incoordinación, sialorrea, prostración y muerte (Dow y Mc Ferran, 1962). En el cerdo no se observa el prurito, sino el cuadro encefalítico o la forma subclínica (Shope, 1935).

El agente etiológico fue aislado originalmente a partir de bovinos afectados (Aujeszky, 1902 según Dow y Mc Ferran, 1962) y por sus características básicas, ha sido clasificada dentro del grupo de virus Herpes (Andrews, 1964).

Schmiedhoffer, Hutyra, Burgrasj y Lourens (según Traub, 1933), sospecharon que las ratas transmitían la infección a los bovinos, estos autores mencionan que las ratas obtenían la infección por ingestión de tejidos contaminados.

Shope (1935), sugiere que el ciclo de la enfermedad en la naturaleza es de ratas a

cerdos y de éstos a bovinos; este autor infectó experimentalmente cerdos por diferentes vías y recobró virus del animal vivo sólo de secreción nasal. Produjo la enfermedad por contacto de secreción nasal de cerdos a lesiones cutáneas de conejos y del mismo modo en bovinos, concluyendo que el cerdo actúa como portador temporal del virus, siendo capaz de infectarse, en forma natural, por aerosoles; sin embargo, los bovinos no se pueden infectar entre sí.

La E.A. ha sido descrita en Hungría (Aujeszky, 1902, según Dow y Mc Ferran, 1962). De acuerdo con Hurst (1933) se describe también en Brasil (Carini y Maciel, 1912); Estados Unidos (Shope, 1931 y 1932); Dinamarca (Bang, 1932) y Holanda (Burggraf y Lourens, 1932).

Hace más de 20 años se observaron en México dos casos clínicos de E.A. en bovinos, en Aguascalientes, Ags. (Bachtold, 1945) y León, Gto. Desde entonces no se tiene conocimiento de otro caso (Ramírez, 1971³). Sin embargo, en junio de 1970, en 170 bovinos de Tlalmilcas, municipio de Arcevia, estado de Guerrero, México, 25 animales presentaron una enfermedad cuyo curso, de 3 a 6 días, se caracterizó por la siguiente sintomatología: zonas denudadas en diferentes partes del cuerpo (regiones costal y cruz; perineo y en la cara interna de los muslos);

Recibido para su publicación el día 28 de junio de 1971.

¹ Laboratorio Central Nacional de Diagnóstico (L.C.N.D.), Dir. Gral. Sanidad Animal, S. A. G. Km. 15½ Carretera México-Toluca, Palo Alto, D. F.

² Ames, Iowa, E.U.A.

³ Comunicación personal.



Foto 1. Enrojecimiento y aumento de volumen en el sitio de la inoculación de la suspensión de virus, 48 horas después de la infección. (Foto tomada por el Dr. Héctor Flores A.)



Foto 2. Conejo que se mordía el sitio de la inoculación subcutánea; comenzaron a rascarse a las 72 horas de la infección. (Foto tomada por el Dr. Héctor Flores A.)



Foto 3. Se rascaban hasta depilar la zona de la inoculación y dejar al descubierto la epidermis; se observa la secreción serosa de la zona lesionada. (Foto tomada por el Dr. Héctor Flores A.)



Foto 4. Los conejos, en su desesperación por evitar la sensación del prurito, presentaban movimientos convulsiformes por no dejar de rascarse. (Foto tomada por el Dr. Héctor Flores A.)

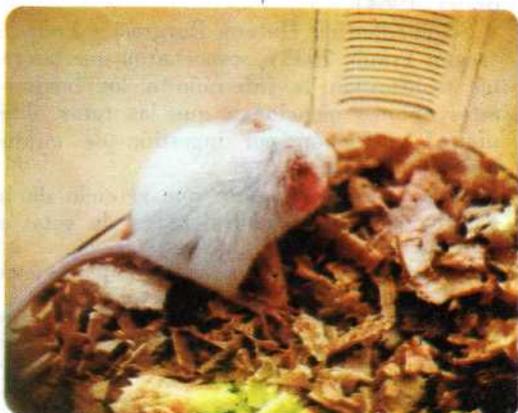


Foto 5. Los ratones inoculados subcutáneamente en el cuello, a las 72 horas comenzaron a manifestar prurito que hacía que se rascaran con las extremidades. (Foto tomada por el Dr. Héctor Flores A.)

se rascaban con objetos y con el suelo y cuando se alcanzaban, se mordían hasta arrancarse la piel, dejando el tejido subcutáneo al descubierto. Tenían debilidad en los miembros posteriores, se postraban, se les apreciaba disnea polipneica, contracciones musculares tónico-clónicas y finalmente morían. En 30 días murieron los 25 animales, los que estuvieron en contacto con un grupo de cerdos importados.

Material y métodos

Se sacrificaron 2 bovinos en estado comatoso, tomándose muestras para estudios bacteriológico, de inmunofluorescencia, histopatológico y virológico.

Con el encéfalo de los 2 bovinos sacrificados se hizo una suspensión al 20% utilizando como diluyente solución balanceada de Hank's (S.B.H.) con 200 U I de penicilina, 2 mg de estreptomycin y 0.2 mg de amfotericina. Esta suspensión se inoculó subcutáneamente a dos conejos en dosis de 0.5 ml manteniéndolos en observación constante hasta su muerte.

Se realizó la necropsia de estos animales, tomándose muestras para examen histopatológico de encéfalo, bazo, pulmón, corazón, hígado, riñón y piel, así mismo se hicieron cortes por congelación de cerebro, los cuales fueron teñidos con anticuerpos fluorescentes.

La cepa original o sea la suspensión cerebral del bovino al 20%, fue inoculada intracerebralmente en dosis de 0.05 ml a un conejo joven, el cual fue sacrificado en estado comatoso extrayendo el encéfalo y se hizo con él una suspensión al 20% con S.B.H. adicionado de penicilina, estreptomycin y amfotericina.

Para la identificación serológica del virus aislado se utilizó suero hiperinmune.⁴ El virus aislado se diluyó en forma decimal de $10^{0.7}$ a $10^{6.7}$ en dos series de tubos; a la primera se le adicionó la misma cantidad de suero de cerdo aparentemente sano y la otra serie se mezcló con la misma cantidad del suero hiperinmune. Estas mezclas se incubaron a 37°C durante 60 minutos, después de los cuales fueron inoculados grupos de 5 ratones por dilución, en dosis de 0.1 ml vía

subcutánea en el cuello y se mantuvieron en observación.

Resultados

El estudio de inmunofluorescencia de las muestras de los bovinos, utilizando conjugado del N.A.D.L. resultó positivo a E.A. En el estudio histopatológico se observaron lesiones sugestivas de esta enfermedad.

En los dos conejos inoculados con suspensión de encéfalo de bovino, a las 48 horas se observó inflamación en el sitio de la inoculación (Fotografía 1), posteriormente se inició el prurito que hacía que los conejos se rascaran (Fotografía 2) hasta sangrar la piel del sitio de la inoculación (Fotografía 3). El prurito era tan intenso, que los conejos hacían movimientos convulsivos por no dejar de rascarse (Fotografía 4) y duraba de 3 a 6 horas aproximadamente, muriendo los animales en convulsiones a las 72 horas después de la inoculación.

Los cortes de cerebro de los dos conejos presentaron fluorescencia específica de E.A. El estudio histopatológico reveló las siguientes lesiones:

Hígado: Congestión y engrosamiento de la cápsula de Glisson, gran cantidad de fibroblastos, engrosamiento de las paredes vasculares e infiltración linfocitaria perivascular.

Piel: Pérdida de la estructura epidérmica y dérmica, zonas de necrosis, presencia de exudado con neutrófilos y linfocitos y degeneración albuminosa en músculo.

Riñón: Engrosamiento de la cápsula de Bowman y congestión y degeneración de la zona cortical.

Bazo: Abundancia de pigmento hemático.

Encéfalo: Infiltración linfocitaria perivascular, neuronofagia, degeneración neuronal, sateliosis, cuerpos de inclusión intranucleares y microgliomatosis.

El conejo joven, a las 48 horas de ser inoculado intracerebralmente con la cepa original cerebral de bovino, presentó un cuadro clínico encefalítico, con sialorrea, convulsiones e incontinencia urinaria.

A las 72 horas los ratones inoculados con la mezcla virus (aislado del conejo joven) más suero normal, comenzaron a presentar

⁴ Elaborado en cerdos S.P.F., inoculados con virus cultivado en células renales de cerdo, y proporcionado por el Dr. Jorge Baer del N.A.D.L.

prurito en el sitio de la inoculación, rascándose con las extremidades (Fotografía 5) hasta sangrar la piel. Presentaron también trastornos de la locomoción, salivación excesiva, convulsiones y muerte. El resultado de la sueroneutralización se presenta en el Cuadro 1.

observaciones de Dow y Mc Ferran (1962, 1969 y 1970), quienes los observaron ocasionalmente en tejidos de cerdos, ovinos, bovinos y ratas inoculadas experimentalmente.

La patogenicidad del virus aislado inoculado a ratones por vía subcutánea, fue un hallazgo afortunado, pues gracias a esto se pudo

CUADRO 1

Sueroneutralización para identificación serológica de una cepa del virus Aujeszky

	Suero normal de cerdos más virus mortalidad	Suero hiperinmune más virus mortalidad
10-1	5/5	3/5
10-2	5/5	1/5
10-3	5/5 título 10 ^{4.75}	0/5 título 10 ^{1.35}
10-4	3/5	0/5
10-5	3/5	0/5
10-6	0/5	0/5
10-7	0/5	0/5

INDICE DE NEUTRALIZACION 3.4

Se observó que la mezcla virus suero normal, dio un título de 10^{4.75} y la mezcla virus suero hiperinmune de 10^{1.35} obteniendo un índice de neutralización de 3.4, identificándose el virus aislado como virus de la E.A.

Discusión

La presencia de cerdos importados en contacto con el lote de bovinos afectados, es significativo, dado que concuerda con las observaciones de Shope (1935) de que los cerdos aparentemente sanos pueden eliminar virus en las secreciones nasales y actuar como portadores sanos (Mc Ferran y Dow, 1970). Estos autores también aislaron virus de muestras de moco faríngeo de cerdos sanos. Probablemente el contacto de los cerdos con los bovinos fue la forma de infección en este caso. El cuadro clínico producido por la cepa aislada, inoculada en conejos, así como el periodo de incubación, va de acuerdo a lo descrito por Traub (1933) al utilizar la cepa original aislada por Dow y Mc Ferran (1962).

Las lesiones histológicas de los conejos inoculados fueron similares a las descritas por Hurst (1933) y Traub (1933). La presencia de cuerpos de inclusión coincide con las

hacer fácilmente la sueroneutralización. Traub (1933) informa que la cepa Shope produjo muertes regulares en ratones sólo por vía intracerebral, pero nunca por vía subcutánea; el mismo autor menciona que Zurich y Zeller (1911) Shope (1931) y Burggraaf y Laurens (1932) indican resultados similares.

La cepa aislada difirió de las descritas anteriormente, por su propiedad de provocar cuadros típicos de E.A. en ratones inoculados por vía subcutánea, presentando un título relativamente alto 10^{4.75} para la vía de inoculación utilizada.

El resultado de la sueroneutralización fue satisfactorio, ya que el índice fue suficiente para la identificación plena de la cepa, que además, fue antigénicamente similar a la cepa de Shope aislada de cerdos afectados.

Es necesario realizar un estudio epizootológico tanto en cerdos como bovinos para tener idea de la difusión de la enfermedad en la República Mexicana.

Conclusiones

a) Queda comprobada la existencia de la enfermedad de Aujeszky en México.

Agradecimiento

Se agradece la ayuda del Dr. Héctor Flores, al tomar las fotografías presentadas en este trabajo.

Summary

An outbreak of Aujeszky's disease or Pseudorabies in cattle was reported in the state of Guerrero, Mexico. The virus was isolated from the brain of a sick animal and the disease was reproduced in rabbits. The final identification was made from serumneutralization with hyperimmune serum of the National Animal Disease Laboratory, U.S.A. (N.A.D.L.). This proved the existence of the disease in Mexico.

Literatura citada

- ANDREWS, H., 1964, Viruses of Vertebrates, *Bailliere Tindall and Cox*, London, 218.
- BACHTOLD, M., 1945, Una nueva enfermedad en México, el mal de Aujeszky, *Revista Tierra*, 1001: 42-43.
- DOW, C. and J. B. MC FERRAN, 1962, The Pathology of Aujeszky's Disease in Cattle, *J. Comp. Path.*, 72: 337-347.
- HURST, W. E., 1933, Studies on Pseudorabies (infectious bulbar paralysis, Mad. Itch). I Histology of the disease with a note on the Symptomatology, *Jour Exptl. Med.*, 58: 415-432.
- KNOSEL, H., 1968, Histopathology of Aujeszky's Disease in the dog and cat, *Zentbl. Vet. Med.*, 15B: 592-598.
- MC FERRAN, J. B. and C. DOW, 1964, The distribution of the virus of Aujeszky's Disease in Experimentally Infected Sheep, *Res. Vet. Sci.*, 5: 143-148.
- MC FERRAN, J. B. and C. DOW, 1970, Experimental Aujeszky's Disease (Pseudorabies) in Rats, *Brit Vet. Jour.*, 126 (4): 173-179.
- SABO, A. J. RAJCANI, J. RAUS and E. KARELOVÁ, 1968, Pathogenesis of Aujeszky's Disease in Cats. *Arch. ges. Virusforsch.*, 25: 288-298.
- TRAUB, E., 1933, Cultivation of Pseudorabies virus, *Jour Exptl. Med.*, 58: 663-680.
- SHOPE, R. E. 1935, Experiments on the Epidemiology of Pseudorabies. I Mode or Transmission of the disease in Swine and their possible role in its spread to cattle, *Jour. Exptl. Med.*, 62 85-99.