

**ANÁLISIS RETROSPECTIVO (1972-1986) DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS INHIBIDORES DE LA HEMAGLUTINACIÓN CONTRA EL *Paramyxovirus* porcino LPM, AL PARECER ASOCIADO CON EL "SÍNDROME DEL OJO AZUL" <sup>a</sup>**

ROSALES ESPINOSA JOSE ANDRES FCO. <sup>b</sup>

RAMOS RIVERA MARIA ISABEL <sup>b</sup>

MARTINEZ LARA ATALO <sup>b</sup>

CORREA GIRON PABLO <sup>b</sup>

**RESUMEN**

Para conocer si con anterioridad a 1980, año en que se diagnosticó por primera vez el "Síndrome del Ojo Azul" (SOA), existían indicios serológicos de la presencia del *Paramyxovirus* porcino LPM, aparentemente asociado con él, se estudiaron mediante inhibición de la hemaglutinación 1742 sueros porcinos, colectados 624 de 1972 a 1979 y 1118 de 1980 a 1986, de diversas procedencias del país. Del total de la muestra 161 sueros fueron positivos (9.24%) manifestando títulos de 1:20 a 1:1280; 1061 sueros resultaron negativos (60.9%), y 520 sueros fueron sospechosos (29.85%), con títulos de 1:5 a 1:15. En la muestra estudiada, proporcionalmente, hubo más sueros sospechosos y positivos antes de 1980 que después de esta fecha ( $P < 0.05$ ); también hubo poblaciones porcinas que tenían mayor número de sueros con anticuerpos que otras ( $P < 0.05$ ). Para comprobar estos resultados, se realizaron pruebas de seroneutralización, por microtitulación a 33 sueros que mostraron títulos IH de 1:20 a 1:80, colectados antes de 1980. Se observó toxicidad celular, la cual disminuyó al diluir el suero; hubo cierto grado de "neutralización" en ocho sueros de 1972 y en tres de 1977; sin que se lograra determinar el punto final de neutralización. Se concluyó que hubo evidencias de anticuerpos IH contra *Paramyxovirus* porcino LPM en los sueros colectados desde 1972.

El "Síndrome del Ojo Azul" (SOA) (2, 10) o "Cerdos Zarcos" (2), es un padecimiento que se detectó inicial-

mente en La Piedad, Michoacán, en 1980 (2, 11, 15, 16). La enfermedad se observó en lechones (15, 16) y cerdos de engorda (2, 8, 17) que mostraban signos nerviosos, opacidad de la córnea (13, 15, 16) y mortalidad del 15 al 20% (8). Se observó falla en el ciclo reproductivo (11), manifestada por incremento en el número de hembras repetidoras, lo que disminuyó en 15 a 20% la fertilidad, se incrementó el número de lechones nacidos muertos y de fetos momificados; el efecto en la maternidad puede durar entre 2 y 9 semanas (11,14). Por otra parte, al analizar un brote combinado con enfermedad del edema, en cerdos de engorda, se determinaron pérdidas globales por mortalidad y retraso en el crecimiento de \$17'715,600.00 (17), en la época en la que un dólar EUA se cotizaba en \$187.09.

El objetivo de este estudio fue conocer si con anterioridad a 1980, año en que se diagnosticó el SOA, existían indicios serológicos de la presencia del *Paramyxovirus* porcino LPM; y de ser así, determinar la presencia de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación (IH) en algunas poblaciones porcinas de los estados estudiados y corroborar los resultados mediante la prueba de seroneutralización (SN) con algunos sueros positivos a la IH colectados antes de 1980.

<sup>a</sup> Recibido para su publicación el 24 de febrero de 1988.

<sup>b</sup> Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Microbiología, Sector Pecuario INIFAP SARH. Apdo. Postal 41-652, México, D.F.  
Téc. Pec. Méx. Vol. 26 No. 3 (1988)

El número de sueros estudiados de 1972 a 1986 fue de 153, 107, 55, 29, 17, 88, 91, 84, 99, 101, 237, 291, 143, 168 y 79 respectivamente; correspondiendo 624 al período de 1972 a 1979, y 1118 al de 1980 a 1986, haciendo un total de 1742. Los 624 sueros del período 1972-1979 proceden de las poblaciones siguientes. En el Estado de México: Atizapán 350 sueros, Texcoco 17, Jilotepec 1, Huehuetoca 5, Toluca<sup>a</sup> 8, Zumpango<sup>a</sup> 6, Cuautitlán<sup>b</sup> 48 y Teoloyucan<sup>b</sup> 28. La Piedad, Mich. 35, Navojoa, Son. 2, Estado de Sonora<sup>b</sup> 12, San Pedro de Los Pinos, D.F. 1, Monterrey, N.L. 6, Lagos de Moreno, Jal.<sup>a</sup> 3, Celaya, Gto. 33; y 69 sueros de procedencia desconocida. Los 1118 sueros colectados de 1980 a 1986, correspondieron a las siguientes poblaciones. En el Estado de México: Texcoco 151 y Toluca 70, Estado de Puebla: Oriental 5, San Martín Texmelucan 3 y Tehuacán 233. Santa Martha Acatitla, D.F. 5, Jiutepec, Mor. 264, Etchojoa, Son. 20; Ciudad Obregón, Son. 16, La Piedad, Mich. 138; y 213 de procedencia desconocida. Todos los sueros fueron conservados en congelación a -20°C desde su fecha de colección original hasta el momento de realizar este estudio. Todos los sueros se diluyeron 1:5, mezclando 0.3 ml de suero con 1.2 ml de solución amortiguadora de fosfatos (PBS). Se adsorbieron con 0.1 g de caolín quemado y lavado,<sup>c</sup> dejando reaccionar a temperatura ambiente durante 10 minutos, esto para remover inhibidores inespecíficos de la hemaglutinación. Finalmente se inactivaron a 56°C durante 30 minutos en baño María (5). Para preparar el antígeno, el virus LPM, aislado por Martínez y col., (8) y caracterizado por Correa y col., (4) y Moreno-López y

col., (9), fue propagado en la línea celular PK-15 (riñón de cerdo); cuando el monoestrato presentó aproximadamente 75% de efecto citopático (ECP) se congeló a -70°C y se descongeló a temperatura ambiente. La suspensión fue centrifugada a 2000 xg durante 15 minutos a 4°C, el sobrenadante se separó en alícuotas de 1 ml que se congelaron simultáneamente a -70°C, (Correa G., 1986, comunicación personal). El antígeno Ag se tituló por hemaglutinación (6) ante eritrocitos de gallo (9) diluidos en PBS al 0.5% (5), de esta manera se utilizaron de cuatro a ocho unidades hemaglutinantes (UHA) en las pruebas de IH, las que se realizaron mediante la técnica de microtitulación (6), ocupando placas de 96 pozos con fondo en "U".<sup>d</sup> Simultáneamente en cada prueba se usaron como controles dos sueros conocidos, uno positivo y uno negativo; se corroboró la utilización de las cuatro a ocho UHA haciendo una titulación regresiva al Ag (6).

Para las pruebas de seroneutralización (SN) se emplearon placas de microtitulación con 96 pozos de fondo plano<sup>e</sup> (6), y seleccionaron grupos de sueros que mostraron títulos IH de 1:20 a 1:80 y que habían sido colectados antes de 1980; 22 sueros fueron de 1972, dos de 1975 y nueve de 1977. Para emplear 30 unidades formadoras de ECP, el Ag fue previamente titulado con base en el ECP producido en monoestratos de células PK-15. Se incubaron durante cinco días a 37°C, con atmósfera de 5 a 10% de CO<sub>2</sub> y ambiente húmedo; haciendo la lectura al término de este período (Correa G., 1986, comunicación personal). Esta prueba de SN se realizó dos veces para confirmar los resultados obtenidos.

El análisis de los datos se realizó mediante pruebas de X<sup>2</sup> (1).

En el Cuadro 1 pueden observarse los resultados generales del presente estudio, donde se consideraron positivos los títulos que eran iguales o mayores a 1:20; los títulos en el rango

a Sueros colectados en el rastro de Tlanepantla, Edo. de México.

b Algunos de estos sueros se colectaron en el rastro de Tlanepantla, Edo. de México.

c J. T. Baker Chemical, 2240.

d Limbro Scientific Co., IS-MRC-96.

e Inter-Med., Nunclon Delta, 167008.

CUADRO 1

TÍTULOS IH CONTRA EL Paramyxovirus porcino LPM EN SUEROS DE CERDOS  
COLECTADOS DE 1972 A 1986.

AÑO	MUESTRA	TÍTULO IH												
		(-)	5 <sup>d</sup>	7.5	10	15	20	30	40	80	160	320	640	1280
1972	153	53	18		29		26		19	8				
1973	107	76	15	3	13									
1974	55	31	5	4	8	4	3							
1975	29	15	2	2	4	4	2							
1976	17	14	2		1									
1977	88	55	14		9	1	6		3					
1978	91	53	22	2	9	2	3							
1979	84	27	34	9	8	4	2							
1980	99	90	6	1	2									
1981	101	91	9	1										
1982	237	149	32	8	43	3	1	1						
1983	291	125	28	16	91	19	12							
1984	143	133	10											
1985	168	70	13	1	9		18		6	26	6	8	8	3
1986	79	79												
TOTAL	1742	1061	210	47	226	37	73	1	28	34	6	8	8	3
%	100	60.9	12.05	2.6	12.9	2.12	4.19	.05	1.6	1.95	.34	.45	.45	.17

d 5 = 1:5 y así sucesivamente.

de 1:5 a 1:15 fueron considerados como sospechosos. Lo anterior fue lo tomando como base a otros Paramyxovirus, ya que se han observado títulos IH tan altos como 1:40 en sueros de ganado vacuno, después de una mínima exposición al virus de la Parainfluenza-3, la cual no produjo signos clínicos de la enfermedad. Cuando en el ganado hubo una respuesta clínica, en seguida de la infección, se detectaron títulos IH de 1:320, 1:640 y mayores. Los

títulos que están en el rango de 1:10 a 1:40, indican previa exposición al virus de Parainfluenza-3, pero pueden no estar relacionados con una enfermedad reciente (5). Por otra parte, en el caso de la enfermedad de Newcastle, los títulos con valor de 1:20 o mayores, definitivamente indican una previa infección del ave (5). En la enfermedad experimental con el virus LPM se detectaron títulos IH de 1:16 a 1:128 a los 9, 15 y 21 días postinoculación; en

CUADRO 2  
 SUEROS POSITIVOS, SOSPECHOSOS Y NEGATIVOS EN EL ESTUDIO RETROSPECTIVO  
 (1972-1986) CONTRA EL Paramyxovirus porcino LPM Y SUS RESPECTIVOS  
 PORCENTAJES, CON RELACION AL AÑO DE MUESTREO.

AÑO	MUESTRA	POSITIVOS	%	SOSPECHOSOS	%	NEGATIVOS	%
1972	153	53	34.64	47	30.71	53	34.64
1973	107	0		31	28.97	76	71.02
1974	55	3	5.45	21	38.18	31	56.36
1975	29	2	6.89	12	41.37	15	51.72
1976	17	0		3	17.64	14	82.35
1977	88	9	10.22	24	27.27	55	62.50
1978	91	3	3.29	35	38.46	53	58.24
1979	84	2	2.38	55	65.47	27	32.14
1980	99	0		9	9.09	90	90.90
1981	101	0		10	9.90	91	90.09
1982	237	2	.84	86	36.28	149	62.86
1983	291	12	4.12	154	52.92	125	42.95
1984	143	0		10	6.99	133	93.00
1985	168	75	44.64	23	13.69	70	41.66
1986	79	0		0		79	100.00
TOTAL	1742	161	9.24	520	29.85	1061	60.90

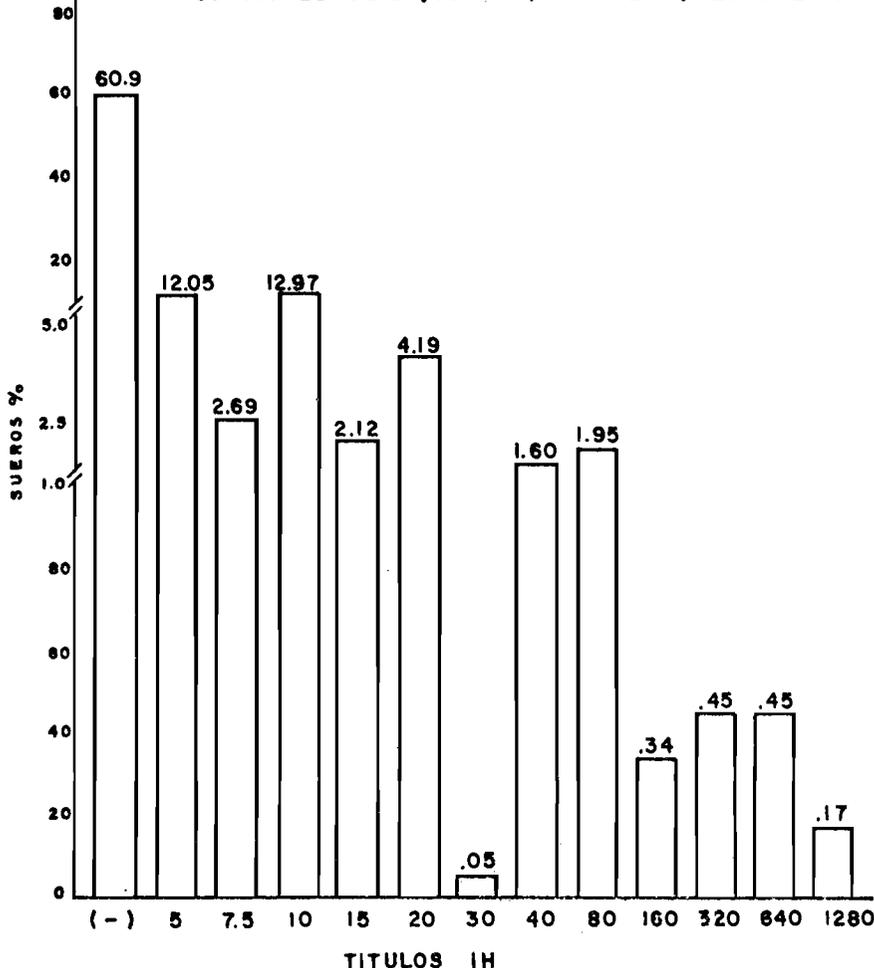
cerdos convalecientes, natural y experimentalmente infectados con el virus LPM, se han encontrado títulos IH de 1:16 a 1:128 y SN de 1:4 a 1:32 (9). Además de que se sabe que los sueros de animales con opacidad de la córnea, muestran tendencia a presentar títulos más altos de anticuerpos IH contra el virus LPM (7). Los porcentajes de los títulos obtenidos también pueden ser observados en la Gráfica 1.

En el Cuadro 2 se presentan los resultados de acuerdo a la cantidad de sueros positivos, sospechosos y negativos; y sus respectivos porcentajes,

con relación al año de muestreo. Al someter los resultados a la prueba de  $X^2$  se determinó que en la muestra estudiada, proporcionalmente, hubo más sueros sospechosos y positivos antes de 1980 que después de esta fecha ( $P < 0.05$ ); así como poblaciones porcinas que tenían mayor número de sueros con anticuerpos que otras ( $P < 0.05$ ).

Por otra parte, en las pruebas de SN se observó un fuerte efecto tóxico del suero para las células, aunque al realizar las diluciones del suero la toxicidad disminuyó; hubo cierto grado

REPRESENTACION PORCENTUAL, MANIFESTADA EN BARRAS, DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN EL ANALISIS RETROSPECTIVO(1972-1986) CONTRA EL *Paramyxovirus porcino* LPM, MEDIANTE IH.



de "neutralización" en ocho sueros del año 1972 procedentes de Atizapán, Méx. y en tres sueros del año 1977 procedentes de Texcoco, Méx.; sin que se lograra determinar el punto final de neutralización. Al repetir las pruebas, las observaciones fueron similares, siendo más manifiesta la "neutralización" en un suero del año 1972.

Se sugiere la realización de estudios complementarios tendientes a determinar el título mínimo de anticuerpos

IH, que debe ser reconocido como específico para considerar, con toda firmeza que un cerdo sufrió la infección y/o la enfermedad por el virus LPM.

Mediante las pruebas de SN se intentó descartar la posible presencia de anticuerpos inespecíficos, que pudieran manifestarse como falsos positivos. Los 33 sueros seleccionados para esta prueba deben ser estudiados mediante alguna otra prueba que pueda corroborar los resultados en forma

clara y precisa y que no sea interferida por la toxicidad, tal como inmunodifusión.

A partir de 1980 la aparición de brotes de cólera porcino disminuyó (3), lo que coincidió con la detección inicial de brotes de SOA en ese año (2,15). Lo que lleva a establecer la posibilidad de que probablemente desde antes de 1980 pudieron haberse presentado casos clínicos de SOA, con signos nerviosos, que pudieron ser enmascarados y confundidos clínicamente con otras enfermedades de tipo nervioso, tal como el cólera porcino.

Se debe determinar la distribución de la enfermedad en todo el territorio nacional, ya que no se conoce la extensión exacta del SOA en el país. A este respecto, se ha mencionado que en 1982 la enfermedad se diagnosticó en el Estado de México; en 1983 en el Distrito Federal, Nuevo León, Hidalgo, Tlaxcala, Yucatán, Tabasco y Querétaro; y en 1984 en Tamaulipas (11,14), pero en diciembre de 1986 se aclaró que el diagnóstico en Yucatán y Tabasco fue a partir de casos de rastro, que aparentemente provenían del Bajío (12), lo cual puede confundir la situación. A este respecto se debe mencionar que, la muestra estudiada en este trabajo corresponde básicamente al centro del país: Michoacán, Jalisco, Guanajuato, Estado de México, Puebla, Morelos y Distrito Federal; además de Nuevo León y Sonora. Dando como resultado aparente el que la enfermedad se encuentre concentrada en la zona del Bajío y centro de la República.

En las poblaciones porcinas muestreadas en la Piedad, Mich., Celaya, Gto., Cuautitlán, Méx.<sup>b</sup>, Tehuacán, Pue., Jiutepec, Mor. y en el Estado de Sonora<sup>b</sup>, se detectaron sueros tanto positivos 9.24% de los 1742 sueros estudiados, como sospechosos 28.38% y negativos 59.25%. Además de estos datos hay que considerar que la muestra procedente del Distrito Federal de 1978 y 1980 se manifestó

sospechosa 0.22% y negativa 0.11%; la de Lagos de Moreno, Jal.<sup>a</sup> de 1978 fue sospechosa 0.17%; del Estado de México, la de Jilotepec fue sospechosa 0.05%, la de Huehuetoca, sospechosa 0.05% y negativa 0.22%, la de Zumpango<sup>a</sup> .22% de sospechosos y 0.11% de negativos, así como la de Teoloyucan<sup>b</sup> con 0.74% y 0.86% respectivamente. La muestra obtenida en Monterrey, NL. (6 sueros) en 1978 fue totalmente negativa 0.34%. Aunque estudios posteriores a 1980 mencionan que la enfermedad si está presente en el Distrito Federal, Jalisco y Nuevo León (11,14). Todos los porcentajes mencionados fueron obtenidos con base en el total de la muestra (1742 sueros).

Con los datos mostrados se puede concluir que desde el año 1972, en los sueros estudiados, hay evidencias de títulos de anticuerpos IH contra el virus LPM. Se detectaron anticuerpos IH arriba de 1:20 en el 9.24% de la muestra examinada, en sueros colectados en los años 1972, 1974, 1975, 1977, 1978, 1979, 1982, 1983 y 1985; procedentes de Tehuacán, Pue., Jiutepec, Mor., La Piedad, Mich., Celaya, Gto., Atizapan, Texcoco, Cuautitlán y Toluca,<sup>a</sup> Méx., y del Estado de Sonora<sup>a</sup>.

Los títulos más altos detectados (1:1280) correspondieron a tres sueros de la Piedad, Mich. del año 1985. La media aritmética del total de los títulos IH detectados fue 1:32. Estos resultados indican que hay indicios serológicos (títulos mayores a 1:5) de que el virus LPM ha estado presente, desde antes de 1980 ( $P < 0.05$ ), en las poblaciones porcinas muestreadas en los Estados de Michoacán, Jalisco<sup>a</sup>, Guanajuato, México<sup>b</sup> y Sonora<sup>b</sup>.

En la muestra del año 1972 se detectaron ya títulos de 1:40 y 1:80; lo que se volvió a manifestar en el año de 1977, donde hubo tres sueros con título de 1:40; además de detectarse títulos de 1:20 en varias muestras colectadas con anterioridad a 1980.

La toxicidad para las células presente en los 33 sueros estudiados median-

te SN, impidió evaluar claramente las observaciones de estas pruebas.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Bióloga Gabriela Fernández Tinoco del Proyecto de Genética Avícola, Sector Pecuario, INIFAP, SARH ; por la ayuda brindada en el análisis estadístico de los resultados.

## SUMMARY

In 1980 the "blue eye syndrome" was first observed, apparently related to the LPM porcine Paramyxovirus. In order to know if before 1980 there was a serological evidence of the presence of LPM virus in Mexico, 1742 pig sera were studied by the hemagglutination inhibition test; 624 of these sera were collected from 1972 to 1979 and 1118 from 1980 to 1986, from different areas of Mexico. From the total of sera sampled, 161 (9.24%) were HI positive, with titres of 1:20 to 1:1280; 1061 ser resulted HI negative (60.9%), and 520 sera were suspicious (29.85%), with titres between 1:5 and 1:15. After the results were evaluated by the  $X^2$  test, a statistically significant difference was observed ( $P < 0.05$ ) between the sera obtained before and after 1980; and between the different populations having any serological titres. When testing 33 of the HI positive sera collected before to 1980, by the seroneutralization test (microtitration), cell toxicity was observed, which decreased after dilution of the sera were made. However, certain degree of neutralization could be observed in eight of the sera collected in 1972 and in three from 1977. In conclusion there was presence of LPM virus HI antibodies in pig sera collected since 1972.

## LITERATURA CITADA

1 ALDER, L.H. and ROESLER, B.E., 1972. Introduction to Probability and Statistics. Fifth edition, W.H. Freeman and Company, San Francisco. p 227.

2 CAMPOS, M.E., 1981. Síndrome del ojo azul o cerdos zarcos. Mem. XVII Convención AMVEC; Ixtapa 81, Gro.

3 Correa, G.P., COBA, A.M.A., ANAYA, E.A.M., 1987. El control del cólera porcino en México. Mem. II Congreso ALVEC, XXII Convención AMVEC, III Encuentro UNPC. Acapulco, Gro. p 107.

4 CORREA, G.P., MARTINEZ, L.A., ERICSSON, A. and MORENO-LOPEZ, J., 1986. Characterization of a paramyxovirus isolated from the brain of a piglet in Mexico. Proc. 9th IPVS Congress, Barcelona, Spain. p 205.

5 COTTRAL, G.E., 1978. Manual of Standardized Methods for Veterinary Microbiology. First published, 1978 by Cornell University Press, Comstock Publishing Associates, Ithaca, New York. p 60.

6 JENNEY, E.W. and SNYDER, M.L., 1981. Microtitration serologic methods for bovine virology. Parainfluenza 3 hemagglutination inhibition test. In Serologic Microtitration Techniques. APHIS, NVSL, USDA, Ames, Iowa, USA. p 35.

7 MARTINEZ, L.A., COLINAS, T.A., CORREA G.P., RAMIREZ, N.R., GARIBAY, S.M., COSS, M., BAES, A. y COBA, A.A., 1987. Determinación de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación contra el Paramyxovirus LPM en cerdos con signos nerviosos, con y sin opacidad de la córnea. Mem. II Congreso ALVEC, XXXII Convención AMVEC. III Encuentro UNPC, Acapulco, Gro. p 76.

8 MARTINEZ, L.A., CORREA, G.P., FAJARDO, M.R., GARIBAY, S.M., MORENO-LOPEZ, J., RAMOS, R.I. y ROSALES, E.F., 1985. Un virus hemaglutinante similar a los paramyxovirus que produce encefalitis y mortalidad en cerdos. Reunión de Investigación Pecuaria en México, 1985. México, D.F., p 81

9 MORENO-LOPEZ, J., COREA-GIRON, P., MARTINEZ, A. and ERICSSON, A., 1986. Characterization of a Paramyxovirus isolated from the brain of a piglet in Mexico. Arch. Virol. 91:221.

10 STEPHANO, A. and GAY, M., 1984. Experimental studies on a new viral syndrome in pigs called "blue eye", characterized by encephalitis and corneal opacity. Proc. 8th IPVS Congress, Chent, Belgium. p 71.

11 STEPHANO, A. y GAY, M., 1985a. Síndrome del ojo azul en cerdos. Mem. Encuentro sobre enfermedades infecciosas del cerdo, AMVEC. Editado por P. Correa G. y A. Morilla G.; Centro Médico Nacional del IMSS. México, D.F., p. 1.

12 STEPHANO, A. y GAY, M., 1985b. Encefalitis falla reproductiva y opacidad córnea, ojo azul. Síntesis Porcina. 5 (12):26.

- 13 STEPHANO H.A. y GAY, G.M., 1985b. El síndrome el ojo azul en cerdos de granjas engordadoras del Bajío. Mem. Reunión de Investigación Pecuaria en México 1985, México, D.F. p 94.
- 14 STEPHANO, H.A. y GAY, G.M., 1986a. El síndrome del ojo azul. Una nueva enfermedad en cerdos asociada a un paramixovirus. *Vet. Mex.*, 17:2.
- 15 STEPHANO, M.A., GAY, G.M., RAMIREZ, T.C. y MAQUEDA, A.J.J., 1981. Estudio de un brote de encefalitis en lechones por un virus hemaglutinante. Mem. XVII Convención AMVEC, Ixtapa 81, Gro.
- 16 STEPHANO, M.A., GAY, G.M., RAMIREZ, T.C. and MAQUEDA, A.J.J., 1982. An outbreak of encephalitis in piglets produced by an hemagglutinating virus. Proc. 7th IPVS Congress, Mexico, D.F. p. 153.
- 17 STEPHANO, H.A., RODRIGUEZ, H. y PERALTA, R.C., 1984. Análisis de un brote de anglopatía cerebroespinal (Enfermedad del Edema) y Síndrome del Ojo Azul en cerdos de una granja engordadora. Mem. II Congreso Nacional AMVEC, Mazatlán, Sin. p 102.