



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**ESTUDIO DE REVISIÓN
ENFERMEDAD DEL OJO AZUL
(*Rubulavirus porcino*)**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

PRESENTA

ERNESTO ALFONSO FENTANES OTERO

ASESOR:

DR. JOSÉ IVÁN SÁNCHEZ BETANCOURT

CIUDAD UNIVERSITARIA, MÉXICO D.F. 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

Introducción	3
1. Antecedentes	5
2. Etiología	6
2.1 Estructura viral	6
2.2 Replicación viral	8
3. Epizootiología	10
3.1 Patogenia	11
3.2 Signos clínicos	12
3.3 Lesiones.....	14
4. Respuesta inmune.....	17
5. Inmunopatología	22
6. Diagnóstico	23
7. Prevención y control.....	26
8. Literatura citada.....	29

INTRODUCCIÓN

El *Rubulavirus porcino* es el causante de la enfermedad del ojo azul y pertenece a la familia *Paramyxoviridae*, en la que se incluyen virus que producen infecciones neurológicas y sistémicas, como el virus del sarampión, el del moquillo canino, el de la enfermedad de Newcastle (aviar) y el virus de la parotiditis humana, mostrando mayor similitud con éste último.¹ La enfermedad del ojo azul se caracteriza por la presencia de signos neurológicos en cerdos lactantes y alteraciones reproductivas en animales adultos. Sin embargo, en los dos primeros años de su aparición, era predominantemente nerviosa y se caracterizaba por provocar ataxia, debilidad, pedaleo e incoordinación, en lechones menores de treinta días de edad, con una mortalidad que alcanzaba hasta el 90%; en este mismo año (1980) los lechones mayores a 30 días de edad no presentaban signos tan marcados y la mortalidad era prácticamente nula. Para el año de 1983 se observaron brotes severos de encefalitis en cerdos de 15 a 45 Kg de peso, acompañados con signos respiratorios tales como tos, disnea y estornudos, presentando mortalidad hasta del 30%.² También se hizo evidente la falla reproductiva en hembras, y los parámetros afectados fueron: el porcentaje de repeticiones, mortinatos y fetos momificados, así como un ligero aumento de los abortos.^{2,3}

Hasta antes de 1998 se pensaba que los sementales eran refractarios a la enfermedad; sin embargo, en ese año se presentaron los primeros casos de orquitis, epididimitis y atrofia testicular con severas alteraciones en la calidad del semen, asociados a la infección por el *Rubulavirus porcino*.⁴

En 2004 se reportaron variedades virales en algunas granjas porcinas de Jalisco, se presentó signología clínica respiratoria y nerviosa en animales mayores de 90 días de edad,⁵ es decir, un patrón nuevo en comparación con el observado en años anteriores. Otros autores reportaron diferencias antigénicas encontradas mediante ensayos inmunológicos a partir de aislamientos virales, obtenidos en diferentes años.⁶ Los cambios antigénicos en los virus quedaron evidenciados al comparar la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (HA) con la prueba de ELISA, cuando éstas fueron evaluadas con sueros provenientes de animales que presentaron un brote de la enfermedad, aun estando vacunados; esto sugiere que el virus vacunal y el virus de campo eran diferentes, por tal motivo la presencia de ambos anticuerpos incrementó el reconocimiento hacia el antígeno y a su vez la sensibilidad de la prueba de HA y no así para la prueba de ELISA, la cual solamente presentaba anticuerpos específicos contra LPM y que al confrontarse con un virus de campo diferente, la sensibilidad relativa disminuyó.⁷

1. ANTECEDENTES

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*.¹ 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.⁸ Las granjas afectadas que no se encuentran inmunizadas apropiadamente tienen pérdidas por desechos de sementales y por mortalidad de lechones en prácticamente todas las camadas, por lo que el impacto económico resulta muy alto. En general la enfermedad del ojo azul es reconocida por los signos clínicos que incluyen alteraciones del sistema nervioso, opacidad de la córnea (en cerdos lactantes y mayores a 30 días), falla reproductiva en hembras provocando un incremento en el número de repeticiones y abortos espontáneos, orquitis, epididimitis y baja en la calidad seminal en verracos.^{9,10} Sin embargo, se reportó un cambio en la virulencia del *Rubulavirus porcino* (RVP) de cuatro aislamientos, encontrando cuadros clínicos con manifestaciones nerviosas en cerdos en la línea de engorda y en animales adultos.¹¹

2. ETIOLOGÍA

El *Rubulavirus porcino* taxonómicamente se clasifica de la siguiente manera: Orden: *Mononegavirales*; Familia: *Paramixoviridae*; Subfamilia: *Paramixovirinae*; Género: *Rubulavirus*; Especie: *Rubulavirus porcino*. Los *paramixovirus* conforman una familia de virus patógenos que producen importantes problemas en la salud humana y veterinaria. Entre los cuales se encuentran el virus sincitial respiratorio y los virus de parainfluenza, causantes de infecciones de vías respiratorias bajas en niños y animales jóvenes. Dentro de esta familia también se incluyen virus que producen infecciones neurológicas y sistémicas, como el virus del sarampión, el del moquillo canino, el de la enfermedad de Newcastle (aviar) y el de la parotiditis humana.¹ Aparte el *Rubulavirus porcino* es resistente a temperaturas de 56°C por 30 minutos y a un pH de 3.0 a 12.0. Es capaz de aglutinar eritrocitos de mamíferos y aves, así como de multiplicarse en una amplia variedad de líneas celulares ocasionando un efecto citopático, caracterizado por la formación de células gigantes multinucleadas debido a una proteína de fusión en la superficie externa del virus. Algunas células o neuronas incluso, pueden presentar cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos.¹

2.1. ESTRUCTURA VIRAL

El *Rubulavirus porcino* tiene forma tridimensional esférica y mide de 100 a 360 nm, tiene una nucleocápside semejante a una hélice o espiral, contenida dentro de una membrana lipoprotéica proveniente de la célula huésped. Ésta contiene dos

proteínas de suma importancia en la biología del paramixovirus; la proteína de fusión (F) que participa en la unión del virus a la membrana celular para su posterior penetración, también es la principal responsable de la fusión con células vecinas, ocasionando la propagación de la infección en el área local. La otra proteína es la hemaglutinina-neuraminidasa (HN) que posee dos dominios funcionales: uno con capacidad para aglutinar eritrocitos y otro que se encarga de la eliminación de grupos de ácido siálico.¹⁶

Los *rubulavirus* están constituidos por seis proteínas estructurales: la polimerasa o proteína de alto peso molecular (L), la nucleoproteína (NP), la fosfoproteína (P), la proteína de la matriz (M) y dos glicoproteínas, la hemaglutinina-neuraminidasa (HN) y la glicoproteína de fusión (F). Las glicoproteínas HN y F son transmembranales y su mayor parte se encuentra expuesta al exterior del virión, dejando un pequeño segmento intraviral que hace contacto con la proteína M, que se ubica en la parte interna de la membrana. Las unidades de la NP se unen mediante interacciones hidrofóbicas al ARN genómico para dar origen a la nucleocápside; cada unidad de NP se enlaza a seis nucleótidos inmediatamente después de la síntesis del ARN genómico y no se separan durante la replicación ni la transcripción, así que a diferencia de los virus con ARN positivo, el genoma de los virus con ARN negativo nunca se encuentra desnudo.^{12,13} A la nucleocápside se asocian cerca de 50 complejos con actividad polimerasa, cada uno de ellos está formado por 3 unidades de proteína P (P3) y una de proteína L, que actúan como componentes catalíticos. Aunque también se encuentran viriones que poseen el mismo número de complejos P sin proteína L.^{12,14} Otras dos proteínas, V

y C, se han identificado en las células infectadas pero no forman parte de la estructura del virión, son codificadas por el genoma viral y se sintetizan al editarse el gen P.¹⁵ Al parecer estas proteínas participan en la regulación de la transcripción y la replicación viral.

Este virus se caracteriza por aglutinar una gran variedad de glóbulos rojos de mamíferos y aves como los de cerdo, vaca, caballo, cabra, gato, cuy, hamster, rata, ratón, conejo y humanos tipo A, B, AB y O, pollos, patos, etc.^{17,18,19} Esto se debe a que su proteína HN reconoce un tipo de ácido siálico que está presente en todos esos eritrocitos.^{20, 21}

2.2 REPLICACIÓN VIRAL

El ciclo biológico de los *Rubulavirus* incluye las fases de reconocimiento, adsorción a la superficie celular, fusión de membranas, penetración a la célula, desnudamiento, transcripción, replicación del genoma, ensamble y liberación de viriones. La partícula viral se adsorbe a la membrana de la célula por medio de la proteína HN, que reconoce un receptor específico, generalmente glicosilado, posteriormente un cambio conformacional de la proteína HN activa a la proteína F, que expone un dominio altamente hidrofóbico mediante el cual fusiona las membranas celular y viral. Este evento ocurre en la superficie celular y a un pH neutro, por lo que es independiente de enzimas lisosomales como ocurre en otros virus. La integración de la envoltura viral al sistema de las membranas celulares provoca la liberación de la nucleocápside en el citoplasma. Ya que el virión trae integrada su propia polimerasa, al liberarse el ARN viral se sintetiza una copia completa del genoma en sentido positivo que servirá de molde para los nuevos

genomas, y por otro lado, se inicia la síntesis de los ARN mensajeros que codifican cada una de las proteínas virales. Los productos de la traducción se dirigen al sitio de ensamble, las proteínas NP, P y L son acopladas al ARN recién sintetizado y la proteína M se acumula en la parte interna de la membrana celular. Las proteínas, HN y F, que fueron sintetizadas en el retículo endoplásmico son glicosiladas en el aparato de Golgi y posteriormente expresadas en la cara externa de la membrana, en sitios de contacto estrecho con la proteína M. La afinidad de las proteínas de la nucleocápside, NP, con la proteína M y de ésta con las glicoproteínas, es determinante para el ensamble del virión, que es liberado de la célula por exocitosis.¹²

La replicación de los *Rubulavirus* se realiza totalmente en el citoplasma, por lo cual se forman aglomerados de nucleocápsides, que se observan como grandes inclusiones citoplasmáticas en las células infectadas.¹²

El material genético viral también puede pasar directamente de una célula infectada a una célula vecina sin que haya necesidad de que se libere la partícula viral, esto es debido al proceso de fusión de membranas celulares realizado por las proteínas HN y F, de esta manera se originan las células gigantes multinucleadas o sincitios, características de las infecciones por *Paramixovirus*.¹²

3. EPIZOOTIOLOGÍA

La enfermedad del ojo azul se ha mantenido desde 1980 en el centro de México, en los primeros años se aisló el *Paramixovirus* de ojo azul (POA) de diferentes brotes en los estados de Michoacán, Jalisco y Guanajuato. La enfermedad se diseminó rápidamente a los estados de Querétaro, Estado de México y Distrito Federal, debido a la intensa movilización de cerdos; sin embargo, la evidencia serológica indicó la presencia de anticuerpos contra el *Paramixovirus* del ojo azul en cerdos reproductores y en animales menores a 45 días de edad, en al menos 16 estados de la República Mexicana.⁸

En las granjas de la región centro – oeste de México se ha establecido como una enfermedad endémica (con baja virulencia de las cepas) y ha llegado a una seroprevalencia del 36%. En estas regiones, la evolución clínica del virus por infección natural se ha descrito como una enfermedad respiratoria en crecimiento y engorde de cerdos.²²

Estudios recientes (2012) confirman que el virus sigue siendo endémico en el centro – oeste de la República Mexicana. La presencia del virus fue observada en 20% de los sueros analizados. Es de destacar que los estados de donde se obtuvieron los sueros son responsables del 75% de la producción porcina nacional.²³

Hasta el momento se sabe que el cerdo es el único animal afectado clínicamente por el *Rubulavirus porcino*, cuando la infección se da de manera natural, sin embargo, experimentalmente afecta a embriones de pollo y ratones; por otro lado

los conejos, perros y gatos también se han inoculado de forma experimental pero no presenta signología clínica.^{3,18}

Se han hecho estudios donde se observa que el virus puede diseminarse a través de fomites, y posiblemente a través de las aves y el viento.²⁴

3.1. PATOGENIA

El virus se transmite a otros animales por la aspiración de microgotas contaminadas cuando éste es eliminado a través de descargas nasales,^{27,28,29} siendo la ruta natural de infección la nasofaríngea. 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.²⁷

La multiplicación inicial del virus se lleva a 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.^{1,18,27} 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.^{1,21} Aunque, hay propuestas de que el virus ingresa al sistema nervioso por vía sanguínea atravesando la barrera hematoencefálica.³⁰

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.^{9,30}

Estudios recientes demuestran que el ARN del *Rubulavirus porcino* persiste en el semen y en el tracto reproductivo durante periodos prolongados post infección. Por lo tanto representa un factor de riesgo importante para propagar la enfermedad en poblaciones porcinas. Los estudios también han sugerido que el virus puede ser excretado en el semen durante la fase clínica de la enfermedad, aunque la persistencia del virus ha sido probada por la detección de ARN viral en el sistema nervioso central, ganglios linfáticos y el tracto reproductivo de los verracos.²⁶

3.2 SIGNOS CLÍNICOS

Los primeros brotes de la enfermedad se caracterizaron por la presentación de signos nerviosos con elevada mortalidad (80-90%) en lechones de 2 a 15 días de edad. La afección nerviosa se presentaba en dos formas: en algunos casos los lechones parecían clínicamente sanos y súbitamente quedaban postrados lateralmente, en otros casos, los animales afectados mostraban signos nerviosos progresivos. En los cerdos mayores de 30 días de edad los signos clínicos eran menos comunes y más discretos, con baja o nula mortalidad.²⁵

Cuando la enfermedad comienza generalmente se observa fiebre, pelo erizado y lomo arqueado, algunas veces acompañado por constipación o diarrea. Posteriormente hay signos nerviosos tales como ataxia, debilidad, rigidez

principalmente en las patas traseras, temblores musculares y posturas anormales, como posición de perro sentado.^{10,25}

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.³ 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.^{2, 3} 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%.⁴

Los sementales adultos infectados no manifiestan cambios en su comportamiento ni en la libido; sin embargo los parámetros reproductivos de estos animales se ven seriamente afectados ya que presentan orquitis, edpididimits, atrofia testicular unilateral o bilateral y esterilidad parcial o total.

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 se incrementó el número de repeticiones, con caída de la tasa de parto e incremento en el intervalo de días de destete a primer servicio, aumentando los días no productivos de las hembras. El aborto no ha sido una característica común, pero se ha observado en algunas hembras en porcentaje variable en brotes agudos. 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.¹⁰ 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.⁵

Estudios recientes han informado que el aumento de tamaño de los testículos ha ocurrido en el 25% de los casos infectados experimentalmente, sin embargo, es importante tener en cuenta que estos signos pueden pasar desapercibidos en las granjas ya que la inspección del epidídimo no es una práctica común.²⁶

3.3 LESIONES

Las lesiones macroscópicas que se pueden encontrar en las infecciones ocasionadas por el *Rubulavirus porcino* son conjuntivitis y diferentes grados de opacidad de la córnea, principalmente en lechones menores de treinta días de edad. En los sementales provoca inflamación de los testículos y del epidídimo, con un marcado aumento en el diámetro, debido al edema en casos agudos; cuando el

curso progresa se observa una marcada epididimitis y orquitis. Cuando el epidídimo es afectado puede tornarse granular y se observa orquitis con fibrosis y adherencias a la túnica albugínea; ocasionalmente pueden encontrarse hemorragias en la túnica, epidídimo o testículo.^{4,35}

En lechones se observa neumonía moderada que usualmente afecta la porción ventral de los lóbulos craneales del pulmón. Se observa una moderada distensión gástrica con la presencia de semi digeridos en leche. Hay una distensión moderada de la vejiga urinaria gracias a la acumulación de orina, en la cavidad peritoneal hay fibrina. El encéfalo puede estar congestionado y el líquido cerebroespinal puede estar incrementado. Ocasionalmente se pueden encontrar hemorragias pericárdicas y renales. En infecciones crónicas las hemorragias tanto de riñón como de pulmón son muy comunes.

También, en los lechones se observa neumonía intersticial e hiperplasia asociada al tejido linfoide. La infección causa enfermedad neumónica caracterizada por una prolongada excreción del virus y alta carga viral en tejido linfoide.²²

Las lesiones microscópicas se localizan principalmente en cerebro y médula espinal donde se puede observar encefalitis no supurativa, afectando principalmente la materia gris del tálamo, cerebro medio y corteza cerebral; incluyendo una gliosis difusa y multifocal, infiltración perivascular de linfocitos, células plasmáticas y reticulares, necrosis neuronal, neurofagia, meningitis y coroiditis. También es característico de este virus provocar en las neuronas cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos debido a que es un virus RNA y su

replicación se lleva a cabo en el citoplasma.^{3,36,37} El pulmón puede presentar neumonías tanto multifocales como intersticiales por el engrosamiento de los septos y una infiltración mononuclear. Muchos de los cerdos afectados presentan una moderada tonsilitis con descamación de epitelio e infiltrado inflamatorio ocupando las criptas. Diferentes grados de infiltración de neutrófilos y mononucleares se ven en la vasculatura endotelial y los tejidos adyacentes del ángulo iridocorneal, ángulo esclerocorneal y la córnea. En las células de la capa externa de la córnea se observa la formación de vesículas. En verracos afectados, las lesiones testiculares son de diferentes tipos y grados, según el curso clínico de la enfermedad. El epitelio germinal puede mostrar áreas de degeneración y necrosis. El tejido intersticial puede mostrar hiperplasia de las células de Leyding, infiltración por células mononucleares, hialinización de las paredes vasculares y fibrosis. Las células epiteliales del epidídimo muestran formación de vesículas así como la pérdida de estereocilios. La ruptura de la pared del epitelio conduce a la salida de los espermatozoides hacia los espacios intertubulares, lo que ocasiona una infiltración de células inflamatorias y macrófagos, que fagocitan los espermatozoides. Esto conduce a la formación de fibrosis, granulomas espermáticos y, consecuentemente, a la atrofia testicular.

En los adultos se observan lesiones histológicas en el epidídimo, que incluyen la formación de granulomas espermáticos y degeneración vacuolar del epitelio del ducto.³⁴

4. RESPUESTA INMUNE

Los anticuerpos y los linfocitos T son los principales sistemas efectores para resolver la infección viral. Los anticuerpos pueden reconocer al virus en forma libre o células infectadas por el virus, ellos controlan las infecciones neutralizando las partículas virales o produciendo la muerte de las células infectadas a través de citotoxicidad mediada por complemento o por células citotóxicas. Los antígenos importantes en estos procesos son las glicoproteínas de la envoltura viral, y aunque se producen anticuerpos contra componentes internos del virión éstos no son importantes en la neutralización de la infección.⁹ Los cambios en la estructura o en la expresión de las proteínas de superficie pueden ser importantes mecanismos mediante los cuales los virus evitan el reconocimiento y la eliminación por anticuerpos.³¹

En contraste con los anticuerpos, las células T sólo pueden reconocer al antígeno en la superficie de células presentadoras y en asociación con las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) del hospedero. El receptor de linfocitos T reconoce péptidos virales unidos a moléculas celulares. Una importante consecuencia de este modo de reconocimiento es que los linfocitos T no pueden reconocer virus libres y su actividad antiviral está confinada a las células infectadas. El mecanismo primario utilizado por los linfocitos T CD8+ para controlar la infección viral, es eliminar a las células infectadas por el virus. Las células CD8+ también controlan el crecimiento viral, produciendo citocinas antivirales como el interferón gamma y el factor de necrosis tumoral, que interfieren con la replicación viral. Los linfocitos CD4+ juegan un papel central en

la inmunidad antiviral y participan en el control de la infección por medio de diversos mecanismos. Ellos producen citocinas antivirales, están involucrados en la activación y reclutamiento de macrófagos y ayudan mediante la síntesis de citocinas, en la producción de anticuerpos y en la respuesta citotóxica mediada por linfocitos CD8+.³²

La respuesta humoral contra el *Rubulavirus porcino* se inicia con la producción de anticuerpos desde la primera semana posinfección. Durante las primeras 4 semanas los títulos se incrementan entre 4 y 6 log² y a partir de la quinta semana llegan a incrementarse hasta 8.5 log².⁹ En la infección natural se han encontrado anticuerpos hasta 18 meses después de presentada la infección.¹⁰ La inmunidad humoral es de gran importancia en el control de la diseminación sistémica de la infección ya que títulos elevados de anticuerpos coinciden con la desaparición de la viremia.²⁷ Los anticuerpos generados están dirigidos contra la proteína HN y son capaces de inhibir la hemoaglutinación y neutralizar la infección viral.⁹ Los anticuerpos contra el *Rubulavirus porcino* pueden ser inducidos utilizando como antígeno al virus inactivado con formalina y esta inmunidad puede transmitirse a la camada al vacunar a las cerdas en gestación. Los anticuerpos adquiridos pasivamente logran controlar la infección y reducir los índices de morbilidad y mortalidad en la población vacunada.⁹

Ensayos *in vitro* muestran que los anticuerpos específicos contra el *Rubulavirus porcino* o contra determinantes antigénicos de la proteína HN poseen actividad neutralizante.³³ No obstante estos resultados alentadores, hasta el momento no se ha logrado producir una vacuna que sea lo suficientemente efectiva para controlar

la infección en el campo, al respecto han encontrado que las diferentes cepas del *Rubulavirus* que circulan en la población porcina poseen diferencias antigénicas que les permiten evadir la respuesta inducida por alguna variante viral.^{5,6}

En relación a la respuesta inmune celular, los primeros cambios que se observan después de la infección es un aumento en el número de linfocitos T totales (CD3+) y citotóxicos (CD8+) esto ocurre durante la primera semana, demostrando la importancia de estas células en el control de la infección. Un evento importante es la identificación de los índices de estimulación muy bajos con los mitógenos concanavalina A y fitohemaglutinina.⁹

Stephano (1998) informó que existe una alta susceptibilidad a padecer infecciones secundarias en los animales infectados con el *Rubulavirus porcino*. Esto puede estar relacionado con la reducción en el número de leucocitos, principalmente de linfocitos CD4+, que ocurre en la tercera semana posinfección,⁹ lo que podría resultar del reclutamiento de células inmunes en los tejidos para participar en el control de la infección,⁶ esto es sugerido por la abundancia de células mononucleares observadas en los tejidos infectados.³⁴ Se ha demostrado que los linfocitos CD4+CD8- estimulados por el virus, se transforman en linfocitos CD4+CD8+, una población celular abundante en la sangre porcina. Los estudios realizados demuestran que esta población de linfocitos T responde de manera específica al virus para convertirse en células de memoria productoras de citocinas del tipo 2 (principalmente IL-10) inductoras de inmunidad humoral. Éste tal vez sea un mecanismo inducido por los *Rubulavirus* para modular la respuesta antiviral y sobrevivir en el hospedero.³⁵ Estas células pueden diferenciarse de las

células en reposo por la alta expresión del marcador de superficie CD29 y del disacárido Gal β 1,3GalNAc reconocido por las lectinas PNA y de *Amaranthus leucocarpus*.³⁵

La importancia de la respuesta inmune celular en el control de la infección viral fue evaluada midiendo la capacidad proliferativa de las células mononucleares de sangre periférica ante un antígeno viral inactivado por calor y ante lectinas mitogénicas y determinando subsecuentemente el fenotipo de los linfoblastos proliferantes. Una fase de inmunosupresión fue identificada en los animales infectados, se mostró que durante la tercera semana de la infección se presenta una disminución del 19% de linfocitos T, de 28% de linfocitos B y de 53% de monocitos, en comparación con los valores promedios observados en los animales sanos utilizados como testigos.⁹ Este fenómeno puede ser el resultado de la infección de células mononucleares que se han identificado durante la segunda fase de la viremia, que se presenta durante la infección por el *Rubulavirus*, la cual ocurre entre los 14 y 21 días postinfección.³⁰ La identificación del antígeno viral en el interior de las células mononucleares circulantes y en las células inmunes de los nódulos linfáticos, indican que el mismo sistema inmune es blanco de la infección viral, aunque no se presente una notable alteración en los mecanismos de respuesta, como ocurre en los virus verdaderamente inmunosupresores.⁶ Es importante mencionar que el virus en etapa crónica causa daños a nivel histológico y que el virus no se elimina incluso con la presencia de anticuerpos neutralizantes. Verracos con infecciones persistentes constituyen un factor de alto

riesgo para la propagación de la enfermedad, ya sea por contacto directo o el uso de semen contaminado en la inseminación artificial.²⁶

Las variaciones antigénicas en la respuesta de anticuerpos encontrados en recientes estudios implica que el uso de una vacuna monovalente no generaría una protección completa contra diferentes subtipos antigénicos. Este hallazgo es similar a lo observado con la vacunación ante el virus de la parotiditis y respuesta de anticuerpos en seres humanos.²³

5. INMUNOPATOLOGÍA

Hasta el momento no se han realizado experimentos para conocer la participación del sistema inmune en el daño a los tejidos durante la infección por *Rubulavirus porcino*. No obstante, observaciones indirectas indican que la respuesta inmune está involucrada al menos en dos eventos patológicos.¹⁸ Han propuesto que la opacidad de la córnea es una reacción de hipersensibilidad mediada por complejos inmunes. La gran respuesta de anticuerpos circulantes contra el *Rubulavirus porcino* observada en las infecciones experimentales y la identificación de una abundante expresión de receptores virales en el tejido ocular, hacen suponer que efectivamente hay una deposición de complejos inmunes en la cámara anterior del ojo, lo que produce la opacidad corneal. El otro evento es la formación del granuloma epididimario que se presenta en los cerdos adultos: Al parecer el virus llega al epidídimo transportado por células inmunes que se infiltran en el tejido. La abundante replicación viral en ese sitio y en los conductos seminíferos produce la atracción de gran cantidad de células inmunes, monocitos, linfocitos T y células plasmáticas, que en su afán de destruir las células infectadas terminan por dañar las paredes de los conductos. Dejando escapar a los espermatozoides al tejido intersticial, lo que genera un círculo vicioso de activación celular e incrementó del daño a los tejidos circundantes.⁶ El granuloma que se forma puede llegar a ser tan grande que es aparente a simple vista como un engrandecimiento testicular anormal. El daño al tejido puede ser tan importante que induzca la involución y la atrofia del testículo afectado.¹

6. DIAGNÓSTICO

Se realiza por medio de pruebas serológicas, siendo la inhibición de la hemoaglutinación la prueba más utilizada para determinar la difusión del virus de la enfermedad del ojo azul EOA en México; aunque también se han utilizado la seroneutralización (SN), ELISA e inmunoperoxidasa.³⁸

Se han hecho diversos estudios para determinar cuál es la prueba serológica más confiable para el diagnóstico, en uno de los cuales se compararon las pruebas de ELISA, SN e IH en 46 animales después de un brote agudo y se encontró que la SN tenía una sensibilidad del 89.1%, ELISA de 89.1% e inhibición de la hemoaglutinación del 84.7%; en 35 animales inmunizados con una vacuna experimental se encontró una sensibilidad de la SN del 94.2%, ELISA 91.4% e IH de 80%; en 94 animales vacunados que se encontraban en una granja durante un brote se encontró una sensibilidad de la ELISA del 91.5% e IH de 98.9%.³⁹ Concluyeron que las mejores pruebas son la SN y ELISA y que la IH puede emplearse como prueba de piara ya que detecta a un pequeño porcentaje de falsos positivos y no así en casos individuales.

Recientemente, se desarrolló la prueba de inmunoperoxidasa (IP), la cual tiene ventaja de que se vende como un “kit” listo para usarse y puede ser utilizado fácilmente para el diagnóstico en los laboratorios que cuenten con poco equipo; en un estudio serológico se demostró que tiene el 100 % de correlación con la prueba de seroneutralización (SN).³⁵

El diagnóstico también se basa en la detección del virus por medio de aislamientos virales, inmunofluorescencia indirecta u observación en tejidos infectados por microscopia electrónica. Las líneas celulares más utilizadas para realizar el aislamiento viral, son: Vero (riñón de mono verde africano), PK-15 (riñón de cerdo),⁴⁰ ST (testículos de cerdo), BHK-21 (riñón de hámster lactante). En estas células el virus produce el efecto citopático característico consistente en la formación de sincitios; y en las células PK-15 también se han observado cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos.⁴¹

Se ha desarrollado también una transcripción reversa específica en tiempo real, ensayo de reacción en cadena de polimerasa. La detección de RVP-LPMV, representa un desafío diagnóstico debido a que el ARN viral está presente en cantidades muy pequeñas en las muestras de tejido. Este estudio resultó ser 1000 veces mejor que una RT-PCR convencional.

Los primeros análisis filogenéticos indicaron que el virus está más relacionado con el virus de las paperas y virus de simio, aunque la identidad de estos virus en el nivel de aminoácidos fue solamente de un 40% relacionado. Más recientes estudios genéticos han demostrado que RVP-LPMV está más estrechamente relacionado con un virus aislado de murciélagos (Virus Mapuera), se ha clasificado en el orden *Mononegavirales*, familia *Paramixoviridae*, subfamilia *Ruvulavirus Paramixovirinae*, género *Ruvulavirus Porcino*.

La excreción viral en el semen, puede jugar un papel epidemiológico importante en la transmisión de la enfermedad, el ARN viral también puede ser detectado en la mayoría de las muestras a partir de los cerdos infectados de manera natural, a pesar de las muestras tomadas de cerdos que murieron un año después de la

recuperación por infección natural, confirmando así la alta sensibilidad de esta prueba (RT-PCR). Por lo tanto, es posible detectar el virus cuando el ARN viral está presente en cantidades muy pequeñas en las muestras de tejido, tales como las de cerdos que se están recuperando de una infección aguda.⁴²

Algunas variantes del virus son capaces de conservar su secuencia de HN durante largos periodos de tiempo, sabiendo también que otras cepas están cambiando, la generación de nuevas variantes que divergen genética y antigénicamente circulan por los animales imponiendo nuevos retos al diagnóstico y a la vacunación. Los estudios de neutralización cruzada muestran que la HN no es el único determinante antigénico participante en los cambios entre las diferentes cepas del virus.⁴³

7. PREVENCIÓN Y CONTROL

Se sabe que este virus se inactiva con agentes químicos como el éter, formalina y beta propiolactona o a temperaturas de 56°C en un periodo mayor a 4 horas²⁴ *in vitro*, por irradiación con rayos UV y X y son sensibles a disolventes lipídicos, detergentes iónicos y no iónicos, formaldehído y agentes oxidantes.²⁵

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.⁴⁴

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.⁴⁴

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.⁴⁴

Para prevenir la enfermedad se han desarrollado diversas vacunas, en una de ellas se utilizó *Rubulavirus porcino* inactivado y se determinaron los niveles de anticuerpos en los animales vacunados, mediante la prueba de seroneutralización; mediante el desafío se comprobó que hubo el 71 % de protección, conferida a través del calostro, en cerdos destetados a los 4, 28 y 38 días de edad provenientes de las hembras vacunadas; mientras que el 100% de los hijos de las hembras no vacunadas murieron al ser desafiados.⁴⁵

Se han utilizado vacunas formalinizadas a partir de encéfalos de cerdos de un brote agudo, la eficacia de estas vacunas es desconocida, sin embargo también se han desarrollado vacunas inactivadas experimentales preparadas con virus cultivado en líneas celulares continuas demostrando buenos resultados en condiciones de campo contra desafíos naturales.

Otro tipo de vacunas se han generado con la implementación de técnicas moleculares, en donde Zenteno-Cuevas (1997) identificó los epitopes específicos de la proteína HN del *Rubulavirus porcino*, que fueron incorporados a la proteína OmpC de *Salmonella typhi* y expresados en bacterias *Escherichia coli* para posteriormente ser evaluados en ratones y conejos; estos antígenos recombinantes generaron una respuesta de anticuerpos capaces de reconocer y bloquear la actividad de la proteína HN y en consecuencia la actividad citopática del *Rubulavirus* probado en cultivo o en infecciones experimentales en cerdos.

Existen varias marcas vacunas en el mercado, en donde la mayoría son inactivadas para vacunar a lechones, animales en desarrollo y pie de cría (INNOVAC Ojo azul), para lechones, reemplazos, vientres y sementales (Porcimune SOA). Pero ninguna vacuna hasta el momento garantiza la inmunidad total.

8. LITERATURA CITADA

1. 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.
2. Stephano HA, Gay GM. (1984). Experimental studies of a new viral Syndrome in Pigs called "Ble Eye" Characterized by Encephalitis and corneal opacity. Proc 8th Int Congr Pig Vet Soc. Ghent: 71.
3. 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.
4. 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.
5. José Ivan Sánchez Betancourt "Evaluación de las afecciones productivas y caracterización del rubulavirus porcino". Tesis de Maestría (2004). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM.
6. 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.
7. Hernández-Jáuregui P, Sundqvist A, Fuentes M, Diaz-Orea A, Reyes-Leyva J, Hernández-Baumgarten E, Moreno-López J (1992). Correlación entre las pruebas de virus neutralización, inhibición de la hemaglutinación y ELISA

en sueros vacunales y de brote para anticuerpos contra el paramixovirus del síndrome del ojo azul en cerdos. *Vet. Mex.* 23: 217-222.

8. Fuentes RMJ, Carreón NR, Ramírez MH, Trujillo OME, Fraire I. (1992). Estudio piloto de la frecuencia de anticuerpos contra el Paramyxovirus del Ojo Azul en cerdos en la República Mexicana. *Veterinaria México*, 23:37-39.
9. 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.
10. Stephano HA (2000a). La enfermedad del ojo azul. Signos clínicos y lesiones. En: Memorias del Simposium Internacional sobre Enfermedades Emergentes del Cerdo.
11. Sánchez-Betancourt J.I., Santos-López G., R. Alonso c, Ramírez-Mendoza d, S. Mendoza e, J. Hernández f, J. Reyes-Leyva b, M.E. Trujillo (2008). Molecular characterization of the hemagglutinin-neuraminidase gene of porcine rubulavirus isolates associated with neurological disorders in fattening and adult pigs
Research in Veterinary Science; 85, 359–367.
12. Lamb RA, Kolakofsky D (1996). Paramyxoviridae: The viruses and their replication. En: *Fields Virology Third Ed.* Fields BN, Knipe DM, Howley PM et al. (Eds.). Lippincott-Raven Publishers. pp. 1177-1204.
13. Santos-López G, Flores E, Baños R, Herrera-Camacho I, Reyes-Leyva J (2004a). Estructura, función e implicaciones patológicas de las proteínas del Rubulavirus porcino. *Arch. MED Vet.* 36 (2): en prensa.

14. Kolakofsky D, Pelet T, Garcin D, Hausmann S, Curran J, Roux L (1998). Paramyxovirus RNA synthesis and requirement for hexamer genome length: the rule of six revisited. *J. Virol.* 72: 891-899.
15. Berg M, Hjertner B, Moreno-López J, Linné T (1992). The P gene of the porcine paramyxovirus LPMV encodes three possible polypeptides, P, V and C; the P protein mRNA is edited. *J. Gen. Virol.* 73: 1195-1200.
16. Santos-López G, Flores E, Baños R, Herrera-Camacho I, Reyes-Leyva J (2004b). Purification of the Porcine rubulavirus attachment protein by liquid isoelectric focusing. *Protein Expression and Purification* 35:120-125.
17. Moreno L, Correa G, Martínez A and Ericsson A. (1986). Characterization of a Paramyxovirus isolated from the brain of a piglet in Mexico. *Arch. Virol.* 91:221-231.
18. Stephano HA, Fuentes RM, Hernández JP, Herradora LM and Carreón R. (1988). Encefalitis y opacidad de la cornea en cerdos destetados, inoculados experimentalmente con paramyxovirus de ojo azul. *Memorias XXIII Cong Asoc Mexicana Vet Esp Cerdos.* Leon, México: 90-92.
19. Ramírez-Mendoza H, Carreón NR, Mercado GC, Rodríguez TJ. (1996). Hemoaglutinación e inhibición de la hemoaglutinación del Paramixovirus Porcino a través de la modificación de algunas variables que participan en la prueba. *Vet. Méx.*, 27(3): 257-259.
20. Reyes-Leyva J, Hernández JP, Montañón LF, Zenteno E. (1993). The porcine paramyxovirus LPM specifically recognizes sialyl(a2,3)lactose-containing structures. *Arch virol.* 133: 195-200.

21. Reyes-Leyva J, Espinosa B, Hernández J, Zenteno R, Vallejo V, Hernández-Jauregui P, Zenteno E. (1997). NeuAc2,3-Gal glycoconjugate expression determines cell susceptibility to the porcine rubulavirus LPMV. *Comp. Biochem. Physiol. Part B* 118: 327-332.
22. Rivera-Benitez Francisco, Cuevas-Romero Sandra, Pérez-Torres Armando, Reyes-Leyva Julio, Hernández Jesús, Ramírez-Mendoza Humberto, Respiratory disease in growing pigs after Porcine Rubulavirus experimental infection. *Virus Research* 176 (2013) 137– 143.
23. Escobar-López A. C., Rivera-Benitez J. F., Castillo-Juárez H., Ramírez-Mendoza H., Trujillo-Ortega M. E. and Sánchez-Betancourt J. I. Identification of Antigenic Variants of the Porcine Rubulavirus in Sera of Field Swine and their Seroprevalence. *Transboundary and Emerging Diseases*. 59 (2012) 416–420.
24. Stephano HA (1992). Encefalitis, falla reproductiva y opacidad de la cornea “Ojo Azul”. *Avances Prod. Porcina*; Vol 1: 245-252.
25. Taylor DJ (1999). Rubulavirus infection and “Blue Eye”. *Pig diseases* 7th ed.:54-55.
26. Rivera-Benitez Francisco, Martínez-Bautista Rebeca, Pérez-Torres Armando, García-Contreras Adelfa del Carmen, Reyes-Leyva Julio, Hernández Jesús, Ramírez-Mendoza Humberto, Persistence of porcine rubulavirus in experimentally infected boars. *Veterinary Microbiology* 162 (2013) 491–498.
27. Collier L, Oxford J (2000). Childhood infections caused by paramyxovirus. En: *Human Virology* Second Ed. Oxford University Press. pp. 75-81.

28. 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.
29. 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.
30. 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.
31. 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.
32. Ahmed R, Biron CA (1999). Immunity to Viruses. En: *Fundamental Immunology*, Fourth Ed. Paul WE. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia. pp. 1295-1334.
33. 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.
34. 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.

35. Stephano HA, Hernández D, Pérez C, González CT, Ramírez MH, Cervantes A. (1990). Boar infertility and testicle atrophy associated with blue eye paramixovirus infection. Proc 11th Int Congr Pig Vet Soc. Lousanne Switzerland: 211.
36. Ramírez TCA, Stephano HA. (1982). Histological central nervous system lesions produced by haemagglutinating virus in naturally infected piglets. Proc 7th Int Congr Pig Vet Soc. México City: 154.
37. Perez PF. (1989). Lesiones histológicas en lechones inoculados experimentalmente con el paramixovirus del ojo azul- (Tesis de licenciatura). México, D.F.:Universidad Nacional Autónoma de México.
38. Morilla GA, Diosdado VF, González VD, Ojeda ZP, Mercado PM, Campomanes CA, Hernández JP, Moreno LJ. (2000). Estudio comparativo entre las prueba de inmunoperoxidasa, ELISA e Inhibición de la hemoaglutinación para el diagnóstico serológico de la enfermedad de ojo azul en cerdos. Symp Int Enf Em del Cerdo, Irapuato, Guanajuato, México. Academia Veterinaria Mexicana, A.C.
39. Hernández J, Garfias Y, Reyes-Leyva J, Chávez R, Lascurain R, Vargas J, Zenteno E (2002). Peanut and Amaranthus leucocarpus lectins discriminate between memory and naive/quiescent porcine lymphocytes. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 84: 71-82. 43.
40. Hernández LJ, Ramírez MH, Zenteno CR, Monroy BJ, Reyes LJR, Zenteno E. (1997). Neumonitis inducida por el rubulavirus porcino. *Rev Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*; 10: 250-255.
41. Stephano HA and Gay GM. (1986). Encefalitis, Falla Reproductiva y Opacidad de la Cornea, Ojo Azul. *Síntesis Porcina* 5;12; 26-39.

42. Cuevas-Romero Sandra, Blomströma Anne-Lie, Alvarado Arcelia, Hernández-Jáuregui Pablo, Rivera-Benítez Francisco, Ramírez-Mendoza Humberto, Berga Mikael. Development of a real-time RT-PCR method for detection of porcine Rubulavirus (PoRV-LPMV). *Journal of Virological Methods* 189 (2013) 1– 6.
43. Sánchez-Betancourt José I., Trujillo María E., Mendoza Susana E., Reyes-Leyva Julio, Alonso Rogelio A. Genetic and antigenic changes in porcine Rubulavirus. *The Canadian Journal of Veterinary Research*. 2012;76: 33–37.
44. 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
45. 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.