

Universidad Nacional Autónoma de México
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



COMPORTAMIENTO DE UNA CEPA APATOGENA
DE E. RHUSIOPATHIAE (usada en la elaboración
de una vacuna contra erisipela porcina) EN RATONES
INMUNODEPRIMIDOS

TESIS DONADA POR
D. G. E. - UNAM

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A

LETICIA RAMIREZ SANCHEZ

1981



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.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

RESUMEN

COMPORTAMIENTO DE UNA CEPA APATOGENA DE E. RHUSIOPATHIAE (usa sa en la elaboración de una vacuna contra erisipela porcina) - EN RATONES INMUNODEPRIMIDOS.

Ramírez Sánchez Leticia
Asesores: MVZ Francisco Suárez Guemes
QFB Luis Bojórquez Narváez

Es ampliamente conocido el riesgo que representa el uso de inmunógenos vivos atenuados para la prevención de enfermedades, debido a que desde el punto de vista biológico existe siempre la posibilidad de que las cepas atenuadas puedan revertir a la patogenicidad y de esta manera producir la enfermedad, en animales vacunados. En este trabajo se propone un método para medir la virulencia residual de la cepa ELM27 en ratones inmunodeprimidos con acetato de hidrocortisona, que fué utilizada para la elaboración de lotes experimentales de vacuna contra erisipela porcina en el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias y comprobar también que no revierte a la patogenicidad y de esta manera contar con un inmunógeno que confiera mayor protección a los animales vacunados y no correr el riesgo de producir la enfermedad. Se utilizaron 8 lotes de 10 ratones cada uno. El lote I estuvo inoculado con acetato de hidrocortisona y el lote II sirvió como control, en ambos se sangró a los animales a las 9, 3, 6, 24, 48 y 72 horas para cuenta leucocitaria y diferencial. El lote I mostró leucopenia ya que la cuenta leucocitaria disminuyó en un 78% y se presentó una marcada linfopenia. El lote II permaneció dentro de su nivel normal. Al lote III se le aplicó la vacuna experimental y al lote IV la vacuna experimental y el acetato de hidrocortisona. Se sacrifico diariamente un ratón para ver en que momento desaparecía E. rhusiopathiae de hígado, bazo y líquido peritoneal, encontrándose que en el lote III solo se aisló en las primeras 24 horas y en el lote IV hasta el sexto día. Al lote V se le aplicó una cepa patógena de E. rhusiopathiae ELM23 que sirvió como testigo positivo y al VI se le aplicó esta misma cepa con acetato de hidrocortisona, en los del lote V los ratones murie-

ron en las primeras 24 horas del 100% mientras que los del lote VII se les aplicó vehículo del acetato de hidrocortisona no mostrando ningún síntoma de enfermedad y finalmente al lote VIII se les aplicó vacuna experimental y se observaron los ratones durante 30 días, no mostrando tampoco ninguna manifestación clínica atribuible a esta.

La vacuna experimental elaborada con la cepa E1M27 --- mostró un grado de virulencia imperceptible de acuerdo con el método utilizado en este trabajo. El hecho de que E. rhusiopathiae no haya sido capaz de producir un cuadro clínico característico de erisipela con una cantidad de leucocitos disminuida en un 78% del nivel normal y de haber sido aislada esta bacteria hasta 6 días después de haberse inoculado los ratones nos sugiere que el grado de virulencia de E. rhusiopathiae es muy bajo. Por otro lado la cepa se ha sometido a pasajes seriados en ratón y se ha observado que no revierte a la patogenicidad, si junto con lo anterior aunamos la buena inmunidad que produce, bien podría usarse esta cepa en la elaboración de inmunógenos destinados al control de la erisipela porcina en México.

INTRODUCCION.

La erisipela es una enfermedad infecto-contagiosa -- producida por la bacteria Erysipelothrix rhusiopathiae, que -- afecta a mamíferos, aves y humanos. Esta infección en el cerdo es conocida como "fiebre roja", "enfermedad de la piel de diamante" ó "piel rómbica", mientras que en el hombre se le conoce como "erisipeloide" ó "erisipela de Rosembach's" (2, 10, 22 30, 40).

La enfermedad es de especial importancia para la industria porcícola, ya que causa retraso en el crecimiento, decomiso en rastros y mataderos, además de las muertes que ocasiona. Por otro lado se ha notificado en los últimos años un incremento de erisipela en humanos (18, 23).

En algunos países de Europa, así como en los Estados Unidos de Norteamérica la erisipela existe en forma enzootica (23). En México esta enfermedad ha sido descrita desde hace mucho tiempo, pero no fué sino hasta 1966 cuando se aisló el agente etiológico por primera vez (11). A esta enfermedad no se le había dado mucha importancia en nuestro país, pero en mayo de 1970 se presentaron varias epizootias en Irapuato, Guadalajara, Estado de México y Distrito Federal (23).

El control de la enfermedad se realiza con vacunas -- y bacterinas por su bajo costo y riesgo.

Mediante estudios preliminares llevados a cabo en -- el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias (INIP) Vargas G, (3) logró aislar una cepa apatógena de campo de Erysipelothrix rhusiopathiae, en el Estado de Hidalgo a partir de la tonsila de un cerdo que no presentaba la enfermedad y el -- cual pertenecía a una piara de animales no vacunados. Esta cepa fué clasificada para los registros del Departamento de Bacteriología del INIP como ELM27 la cual posee una estructura -- antígenica que tiene reacción cruzada aproximadamente con el -- 80% de los antígenos de cepas aisladas de casos de campo en -- México. Además esta cepa ha sido empleada en la elaboración -- de lotes experimentales de vacunas atenuadas para la preven-- ción de la erisipela porcina con buenos resultados (41).

Es ampliamente conocido el riesgo que representa --- el uso de inmunógenos vivos atenuados para la prevención de -- enfermedades, debido a que desde el punto de vista biológico -- existe siempre la posibilidad de que las cepas atenuadas pue-- dan revertir a la patogenicidad y de esta manera producir la -- enfermedad en los animales vacunados. Algunos autores indican -- que las cepas utilizadas para elaborar vacunas contra erisipe -- la porcina causan lesiones locales, muerte de los animales de -- laboratorio o bien que las propias vacunas provocan o predis-- ponen a la artritis crónica (13, 14, 43). por lo anterior son

necesarios métodos que garanticen la inocuidad de las cepas que se utilizan para la elaboración de vacunas contra erisipela porcina, por lo cual se propone un método en este trabajo, con la finalidad de medir la virulencia residual de la cepa ELM27 en ratones inmunodeprimidos con acetato de hidrocortisona que fué utilizada para la elaboración de lotes experimentales de vacunas en el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias y comprobar también que no revierte a la patogenicidad y de esta manera contar con un inmunógeno que confiera mayor protección a los animales vacunados con esta cepa y no correr el riesgo de producir la enfermedad.

GENERALIDADES.

La bacteria Erysipelothrix rhusiopathiae fué clasificada en el género Erysipelothrix, en la octava edición del Bergey's (2,10). Se le considera principalmente parásito de mamíferos, aves y peces. Se ha aislado de ratones y el hombre (10).

La identificación de Erysipelothrix rhusiopathiae se llevó a cabo en 1878, cuando Koch la aisló de un ratón para experimento y la denominó "bacilo de la septicemia del ratón". Pasteur y Thuiller en 1883 aislaron este organismo de lechones con erisipela y prepararon una vacuna. En 1885 Loeffler presentó una descripción precisa del agente aislado por Koch y Pasteur y describieron la enfermedad en el cerdo (10, 40).

A) Características morfológicas de E. rhusiopathiae.

Las células de Erysipelothrix rhusiopathiae, son bacilos cortos, delgados, rectos o curvos de 0.2 a 0.6 micras de ancho por 0.5 a 2.4 micras de largo. Se encuentran aislados, en parejas o en grupos de cadenas que tienden a formar largos filamentos. Son inmóviles, no forman esporas y no tienen cápsula. Son Gram⁺ pero se decoloran fácilmente cuando proceden de cultivos viejos (2, 10, 24, 40).

Chooning y col. en 1938 describieron tres tipos de colonias: lisas (s), rugosas (r) e intermediae (s-r). Las co-

lonias típicamente lisas son circulares, con superficie convexa y lisa, en estas colonias los organismos vistos al microscopio aparecen pequeños, rectos o ligeramente curvos, con polos redondeados o arreglados simplemente en pequeños paquetes o grupos de cadenas cortas. En la forma rugosa las colonias típicas son circulares pero irregulares con bordes rizados y superficie rugosa. Las colonias intermedias presentan algunas características de las lisas y rugosas. La forma rugosa generalmente se observa en cultivos viejos y puede cambiar a lisa mediante pases en ratón (10, 40).

B) Características bioquímicas de E. rhusiopathiae

E. rhusiopathiae es un organismo aerobio y anaerobio-facultativo. La temperatura para su óptimo desarrollo es de 37°C a un pH de 7.6. No crece en medios de cultivos ordinarios por lo que para obtener un buen desarrollo se requiere de la adición de sustancias altamente nutritivas como sangre, suero de caballo, que favorece la rapidez y abundancia del crecimiento, además de su antigenicidad (2, 12, 23, 24, 40, 45).

El azida de sodio y el cristal violeta son sustancias que se usan para la elaboración de medios selectivos para Erysipelothrix, dada la resistencia que muestra esta bacteria para estos compuestos y el conocimiento que se tiene de que in -

hiben el desarrollo de Gram+ (azida de sodio) y Gram - (cristal violeta) (17, 27, 39, 40).

Las propiedades bioquímicas de E. rhusiopathiae se presentan en el cuadro No. 1

CUADRO NO. 1

PROPIEDADES BIOQUÍMICAS DE E. RHUSIOPATHIAE

Catalasa	-
Oxidasa	-
Glucosa	-
OF	F
Maltosa	-
Manitol	-
Rafinosa	-
Salicin	-
Sorbitol	-
Sacarosa	-
Trehalosa	-
Xilosa	-
VP	-
Hidrólisis de la esculina	-
Hidrólisis del almidón	-

Licuefacción de la gelatina	-
Reducción de nitratos	-

(5)

C) Estructura antigénica

En cuanto a la estructura antigénica de E. rhusiopathiae veinte serotipos han sido reportados (6, 36, 37, 36), - los cuales están diferenciados en base a las características antigénicas de los glicopéptidos presentes en la pared celular de cada bacteria. El sistema de clasificación actual de cepas de E. rhusiopathiae se inició en 1949, cuando Dedié (8) encontró dos variantes serológicas. El designó estos tipos como A y B y describió una tercera variante, que denominó N, --- la cual no contiene antígenos capaces de estimular la formación de anticuerpos tipo específicos en conejos. En 1973 Kuck sera (21) reorganizó los serotipos de E. rhusiopathiae e introdujo un sistema de designación numérica, en el cual los tipos A y B de Dedié quedaron como tipos 1 y 2.

Los serotipos de E. rhusiopathiae han sido asociados con la habilidad de cepas específicas para conferir inmunidad en el cerdo cuando son usadas en bacterias adsorbidas aunque los antígenos responsables de los serotipos no son idénti

cos a los antígenos inmunizadores, ellos pueden compatir ciertos componentes. Finalmente algunos investigadores han sugerido que los serotipos específicos de los microorganismos pueden estar relacionados a su predilección por el huésped, virulencia y formas clínicas de la enfermedad (6, 42, 43).

D) Patogenia

La vía de entrada de este microorganismo es la mucosa oral, aunque también es importante la piel irritada o a través de heridas como son las producidas por el marcaje o castración de los animales (1, 10, 15, 33).

Las manifestaciones clínicas de la erisipela porcina son variables y dependen del grado de susceptibilidad del animal y de la virulencia de la cepa. Debido a esto es posible -- reconocer ciertas formas clínicas de la enfermedad.

- 1) Aguda o septicémica
- 2) Crónica con endocarditis
- 3) Subclínica

1) Aguda o septicémica: Puede confundirse con otras -- enfermedades septicémicas como cólera porcino y salmonelosis -- aguda (15, 23). Los animales enfermos presentan hipertermia -- con abundante secreción serosa, incoordinación de los miembros -- posteriores (23, 24, 40).

Puede aparecer diarrea, las lesiones cutáneas se presentan entre el segundo y el tercer día después de la exposición a la infección, presentándose en los cerdos de piel clara pequeñas áreas de color rojo que por lo general son elevadas resistentes a la presión (24, 38), estas últimas debidas principalmente a una necrosis fibrinoide y trombosis de las arterias terminales en el área afectada; el mecanismo por lo que esto ocurre es una reacción de hipersensibilidad del tipo III según la clasificación de Coombs (16). Hallazgos de laboratorio en casos agudos, descritos por Dogherty, N. R. y col. (9) sugieren que el daño causado por E. rhusiopathiae en el cerdo se produce principalmente a nivel del glomérulo renal, hígado y miocardio, ya que en estos animales se encuentran elevados los niveles de nitrógeno de urea sanguínea, creatinina sanguínea, hipoglucemia. Hay leucocitosis en las primeras 12 horas seguida por una leucopenia antes de las 72 horas, lo cual se puede utilizar para diferenciar la erisipela con el cólera porcino (9, 23).

2) Forma crónica: Sigue a la infección aguda, cuando los animales que sufrieron esta fase de la enfermedad logran recuperarse y se caracteriza por lesiones necróticas que producen pérdidas de porciones de piel, orejas rabo y en ocasiones hasta los miembros, cambios valvulares en el corazón -

y lo más sugestivo de esta fase: artritis. Las lesiones de las articulaciones varían de una inflamación leve en la cual la -- membrana sinovial esta debilmente congestionada y el fluido -- sinovial oscuro a una exagerada formación de tejido de granula ción y de infiltraciones celulares (1, 19, 23, 24, 38).

La artritis reumatoide del cerdo es muy parecida a la que se presenta en el humano ya que ambas presentan los mismos cambios degenerativos en el sitio de la lesión, además de las alteraciones séricas como son la baja de los niveles de albú-- mina, aumento de globulinas alfa y gamma, presencia del factor reumatoide y factor aglutinante eluido de eritrocitos, así co-- mo un aumento en la velocidad de sedimentación de los mismos.- Estos cambios van apareciendo junto con las lesiones histopa - tológicas, y algunos autores como Papp y Sikes entre otros han descrito cierta relación entre ambas y señalan que las altera-- ciones serológicas pueden deberse a los cambios ocurridos en - la membrana sinovial de la articulación afectada (28).

3) Forma subclínica: Pasa desapercibida y solo se de-- tecta por el aislamiento de E. rhusiopathias de las amígdalas-- del cerdo (12, 25, 39). Finalmente la erisipe la crónica no es necesariamente mortal, pero los animales afectados no engordan rapidamente, ocasionando graves pérdidas económicas (1, 22, 23 38, 36).

E) Diagnóstico.

a) Clínico: La erisipela porcina en su forma aguda -- no puede ser fácilmente diferenciada de otras enfermedades -- septicémicas tales como cólera porcino, salmonelosis aguda e infecciones bacterianas primarias de los animales jóvenes. -- Una historia clínica señalando casos de muerte súbita, varios animales enfermos con altas temperaturas, apetito variable, -- recuperación espontánea rigidez y cojera, así como desarrollo subsecuente de cojera crónica con visible malformación de articulaciones son síntomas presuntivos de erisipela porcina -- (10). El reconocimiento de lesiones características en la -- piel, en forma de rombos son el diagnóstico concluyente. En -- el exámen post-mortem la presencia del bazo alargado es suges-- tivo de erisipela porcina (10).

b) Diagnóstico bacteriológico: El aislamiento de E. rhusiopathiae de muestras de animales enfermos a partir de -- corazón, pulmón, hígado, bazo, riñón y articulaciones afecta-- das proporciona un diagnóstico definitivo para erisipela por-- cina (1, 22, 10).

F) Prevención:

El control de la enfermedad comprende fundamentalmen-- te la prevención con vacunas y bacterias no obstante es nece--

sario considerar algunos aspectos para la elaboración y el uso de inmunógenos contra erisipela porcina.

1) Complejidad antigénica de E. rhusiopathiae, la -- cual presenta veinte serotipos diferentes.

2.- Existen serotipos como el 1 y el 2, los cuales -- pueden inducir inmunidad contra serotipos pero no contra la -- totalidad de ellos, debido a que los antígenos responsables de los serotipos son diferentes a los que inducen a la formación de anticuerpos protectores y no son los mismos ni se encuentran en todas las cepas.

3.- Algunos serotipos como el 9 no inducen inmunidad -- ni contra ellos mismos en cerdos susceptibles, los cuales se -- piensa pueden ser responsables de brotes de erisipela en pia -- ras inmunizadas (47).

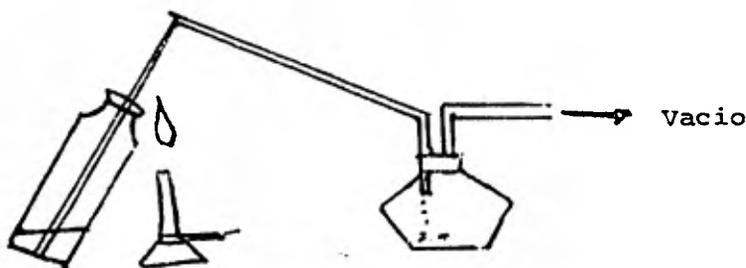
4.- La comprobación de la potencia de los inmunógenos elaborados con cepas atenuadas, si bien confieren mayor pro -- tección que las bacterinas (25), también pueden ocasionar reacciones secundarias incluyendo la enfermedad misma; debidas a -- virulencia residual o reversión a la patogenicidad en las ce -- pas atenuadas utilizadas para elaborar estos inmunógenos (13, -- 14, 47).

MATERIAL Y METODOS.

para el siguiente trabajo se utilizó la vacuna experimental contra erisipela porcina elaborada con la cepa -- apatógena ELM27 de acuerdo con el procedimiento descrito por Bojórquez (3), la cual se perservó a 4° C hasta el momento -- de su utilización.

Fué usada como testigo positivo una cepa patógena -- de E. rhusiopathiae clasificada para los registros del INIP como ELM23, a la cual se le dieron 5 pases en ratón en medio de agar triptosa para pasarla de fase lisa a rugosa, ya obte -- nida así la cepa se sembró en un frasco de Roux conteniendo -- medio de triptone modificado y se incubó a 37° C por 24 ho -- ras. Después se cosechó con un dispositivo como se muestra -- en la figura No. 1

FIG. NO. 1



Dispositivo usado para cosechar la cepa EM123

Se ajustó la concentración a 1×10^4 UFC (unidades formadoras de colonias) equivalente a una DMM, después se envasó en frascos ampolla de 60 ml con solución salina fisiológica.

Finalmente se realizaron pruebas de pureza sembrado - 5ml de cultivo en los siguientes medios: Infusión cerebro corazón, thioglicolato fluido y Saboureaud dextrosa agar. A excepción de este último que se incubó a 28° C por 14 días, los demás se incubaron a 37° C por 7 días. En el medio de Saboureaud no hubo crecimientos, mientras que en los restantes se observaron bacterias características con la morfología de E. rhusiopathiae (29).

Para inmunodeprimir a los ratones se utilizó acetato de hidrocortisona de los laboratorios Rousel, el cual fué emulsionado en un vehículo proporcionado por Syntex.

Los ratones fueron de la línea CFW con un peso aproximado de 16 a 20 gramos, los cuales se distribuyeron en 8 lotes de 10 ratones cada uno aplicándose los biológicos como se muestra en el cuadro No. 2.

De los lotes 1 y 11 se sangraron los ratones a las siguientes horas: 0, 3, 6, 24, 48, 72, 96 horas con el objeto de determinar el número de leucocitos totales y cuenta leucocitaria diferencial siguiendo la técnica descrita por Schalm (34).

De los lotes III y IV fué sacrificado diariamente

CUADRO NO. 2

DISTRIBUCION DE RATONES Y APLICACION DE BIOLÓGICOS

Lotes de 10 ratones c/u	Biológico 0.5 ml. Intraperitoneal	A. hidrocortisona 25 mg subcutánea
I	-	-
II	EIM27'	+
III	EIM27	-
IV	EIM23"	+
V	EIM23	+
VI	-	-
VII	EIM27	vehículo
VIII		-

EIM27 ' Vacuna experimental
EIM23 " Cepa patógena rugosa

un ratón, realizándose cultivos a partir de hígado, -- bazo y líquido peritoneal durante 7 días para ver en que momento desaparecía E. rhusiopathiae de estos órganos.

A partir de los lotes V y VI se verificó el porcen -- taje de ratones muertos (con y sin acetato de hidrocortisona -- respectivamente). Se practicó la necropsia y se intentó el ais -- lamiento de la cepa patógena inoculada a partir de hígado, ba -- zo y líquido peritoneal.

En el lote 7 se aplicó solo vehículo del acetato de -- hidrocortisona para verificar si produce alguna alteración en --

los ratones. por último en el lote 8 solo se aplicó la vacuna experimental y se observó a los ratones durante 21 días para-observar si presentaban manifestaciones desfavorables atribui-bles a la vacuna (29)

Todos los datos obtenidos en la cuenta leucocitaria-
fueron analizados siguiendo la distribución de T de "students"
(42)

RESULTADOS.

CUADRO No. 3CUENTA LEUCOCITARIA EN ANIMALES TRATADOS Y NO TRATADOS CON -
ACETATO DE HIDROCORTISONA

Hora	No. de leucocitos lotes		Significación estadística
	I	II	
0	10630	12030	$P < 0.023$
3	11165	11485	$P < 0.067$
6	12195	11735	$P < 0.037$
24	2345	12440	$P < 0.001$ '
48	2740	10790	$P < 0.001$ '
72	8215	10945	$P < 0.003$ "
96	10215	11005	$P < 0.02$

' Diferencia estadísticamente significativa a $P < 0.001$

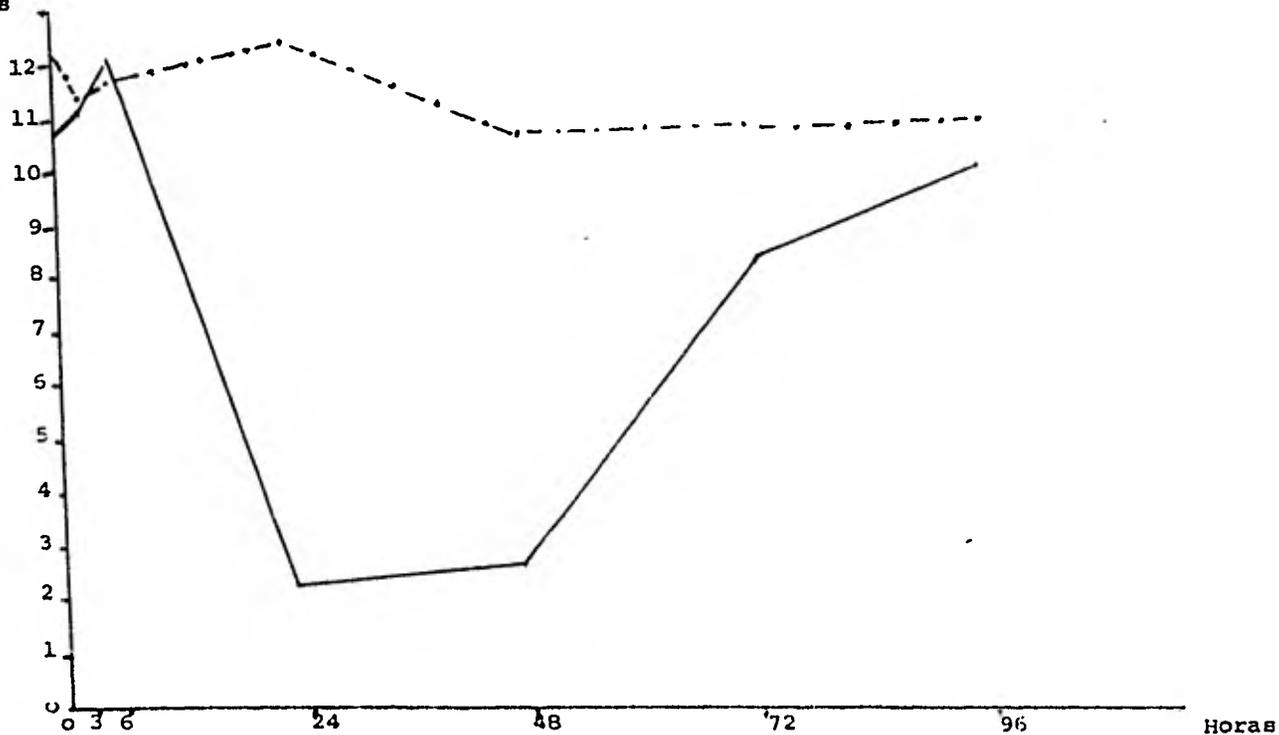
" Diferencia estadísticamente significativa a $P < 0.005$

Los ratones del lote no. 1 inoculados con acetato de hidrocortisona mostraron leucopenia ya que la cuenta total de glóbulos blancos disminuyó en un 77.94% a las 24 horas permaneciendo casi iguales hasta las 48, para volver a normalizarse a las 96 horas.

GRAFICA No. 1

CUENTA TOTAL DE LEUCOCITOS DE LOS LOTES I y II

Número de
leucocitos
 $\times 10^3$

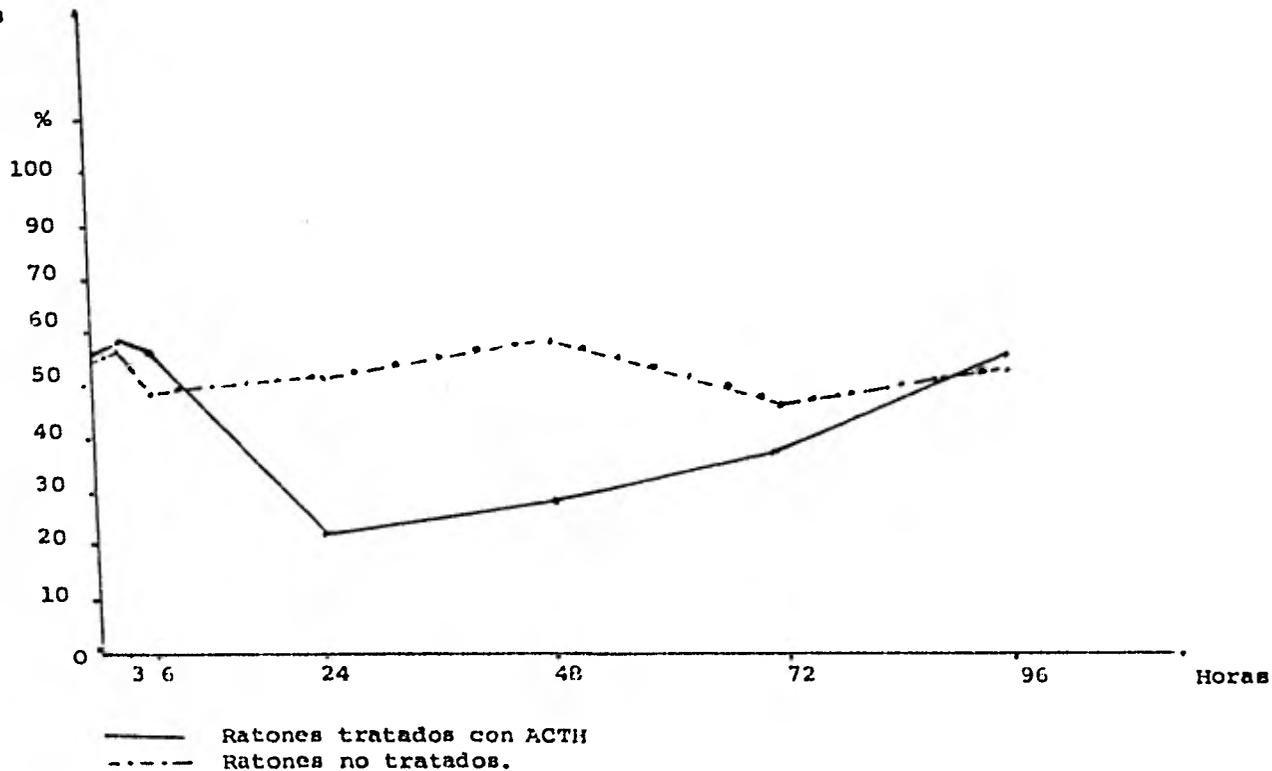


— Ratones tratados con ACTH.
- - - Ratones sin tratamiento.

GRAFICA No. 2

CUENTA DIFERENCIAL DE LINFOCITOS DE LOS LOTES I y II

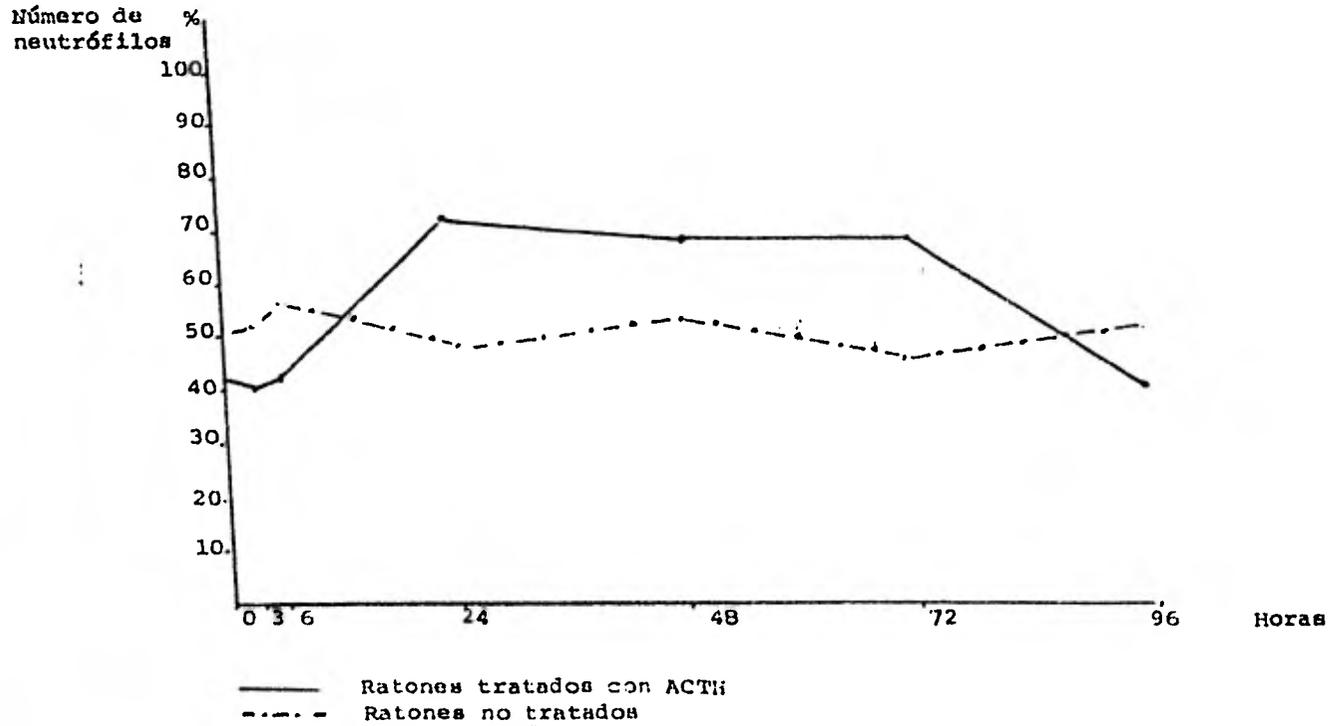
Número de
linfocitos



GRAFICA NO. 3

CUENTA DIFERENCIAL DE NEUTROFILOS DE LOS LOTES

I y II.



CUADRO No. 4 AISLAMIENTO DE LA CEPA EIM27 EN RATONES TRATADOS Y NO TRATADOS CON ACETATO DE HIDROCORTISONA

Días	Lote III			Lote IV Acth +		
	Vacuna experimental			Vacuna experimental		
	Hígado Bazo L.P'			Hígado Bazo L.P.'		
1	+	+	+	+	+	+
2	-	-	-	+	+	+
3	-	-	-	+	+	+
4	-	-	-	+	+	+
5	-	-	-	+	+	+
6	-	-	-	+	-	+
7	-	-	-	-	-	-

Acth Acetato de hidrocortisona
L.P Líquido peritoneal

En el lote III se aplicó solo la vacuna experimental y se aisló la bacteria E. rhusiopathiae hasta las 24 horas, en tanto que en el lote IV se pudo aislar hasta el sexto día a partir de hígado y líquido peritoneal.

CUADRO No. 5

PORCENTAJE DE MUERTES DE RATONES TRATADOS Y NO TRATA-
DOS CON ACETATO DE HIDROCORTISONA E INOCULADOS CON LA
CEPA PATOGENA EIM23

Lote	Biológico	Horas	PORCENTAJE DE MUERTES		
			24	48	72
V	Cepa patógena EIM23		50%	40%	10%
VI	Cepa patógena EIM23 - ACTH *		100%	-	-

ACTH* Acetato de hidrocortisona

Como podemos observar en el cuadro anterior los ratones del lote V inoculados solamente con la cepa patógena en forma rugosa EIM23 murieron en un 50% a las 24 horas, el 40% a las 48 y el último 10% a las 72 horas, mientras que en el lote VI los ratones tratados con acetato de hidrocortisona y cepa patógena murieron el 100% en las primeras 24 horas.

A los ratones del lote 7 a los cuales solo se les aplicó el diluyente no mostraron ningún síntomas de enfermedad, lo cual indica que esto no influyó en los resultados del experimento. En cuanto a los del lote 8 a los cuales se les

aplicó la vacuna experimental se observaron durante 30 días, -
no mostrando tampoco ninguna manifestación desfavorable atrib-
bible a la vacuna experimental.

DISCUSSION.

Los ratones del lote 1 tratados con acetato de hidrocortisona presentaron leucopenia por 48 horas, ya que el acetato de hidrocortisona provoca en el ratón la disminución del número de leucocitos y linfopenia. La corteza suprarrenal disminuye el número de linfocitos y de eosinófilos, y si la neutrofilia no es de suficiente magnitud para compensar la mengua, el número total de leucocitos disminuye (33). Esto nos demuestra que los ratones estuvieron inmunodeprimidos, ya que la función principal de los linfocitos esta relacionada principalmente con el sistema humoral de defensa y producción de anticuerpos (4, 30, 32, 22).

Del lote III se aisló E. rhusiopathiae al primer día siendo negativos los aislamientos posteriores, los del lote IV la bacteria permaneció hasta el sexto día. Esto nos sugiere que los ratones estuvieron inmunodeprimidos a nivel de fagocitos, aún cuando estos hayan estado en número mayor que el normal, ya que como es sabido, el acetato de hidrocortisona actúa sobre los fosfolípidos de las membranas de los lisosomas inhibiendo la liberación de enzimas secretadas por estos organelos (44), permitiendo de esta manera la estancia de la bacteria en los ratones por más tiempo.

En cuanto a los ratones a los cuales se les aplicó la cepa patógena EIM23, como se puede apreciar en el cuadro

número 5 los que estuvieron inmunodeprimidos murieron antes - de 24 horas, en tanto que los que no fueron tratados con acetato de hidrocortisona murieron totalmente hasta las 72 horas, comprobando con esto y con lo anterior que los ratones estuvieron inmunodeprimidos.

Los ratones del lote 8 que se observaron por 21 días no presentaron manifestaciones desfavorables atribuibles a la vacuna durante este lapso de tiempo.

CONCLUSIONES

La vacuna experimental elaborada con la cepa ELM27 --
mostró un grado de virulencia imperceptible de acuerdo con el--
método utilizado en este trabajo.

El hecho de que E. rhusiopathiae ELM27 no haya sido--
capaz de producir un cuadro clínico característico de erisipe--
la con una cantidad de leucocitos disminuidos en un 78% del --
nivel normal y haber sido aislada esta bacteria hasta 6 días -
después de haberse inoculado los ratones nos sugiere que el --
grado de virulencia de E. rhusiopathiae es muy bajo. Por otro--
lado la cepa se ha sometido a pases seriados en ratón y se ha--
observado que no revierte a la patogenicidad, si junto con lo--
anterior aunamos la buena inmunidad que produce, bien podría -
usarse esta cepa en la elaboración de inmunógenos destinados -
al control de la erisipela porcina en México (7).

BIBLIOGRAFIA.

REFERENCIAS

- 1.- Blood, C.D., and Henderson, A.J.; Veterinary Medicine, 4th Ed. New York. The Macmillan Publishing Co. Inc. (1974).
- 2.- Buchanan, R.F. and Gibbons, N.E. Ed: Bergey's Manual of -- determinative bacteriology. 8th Baltimore, The Williams -- Co. U.S.A. 597 (1974).
- 3.- Bojórquez, N.L.; Vacuna elaborada a partir de una cepa -- apatógena de campo de Erysipelothrix rhusiopathiae en Mé -- xico. Tesis Profesional. Fac. de Química U.N.A.M. México, -- D.F. (1978)
- 4.- Córdoba A.F., Estrada, P.S.; Fundamentos de inmunología e -- inmunoquímica. Programa Regional de Desarrollo Científico -- y Tecnológico, Departamento de Asuntos científicos de la -- Secretaría General de la Organización de los Estados Améri -- canos. Pag. 55 (1973).
- 5.- Cowan and Steel's; Identification of medical bacteria. -- University Press 2th ed. 65 (1974).
- 6.- Cross, J.M.G. and Claxton, D.P.; Serological classification of australian strains of Erysipelothrix rhusiopathiae isola -- ted from pigs, sheep, turkeys an men. Austral. Vet. Jour. -- 55; 77-81 (1979).
- 7.- Curso latinoamericano de enfermedades septicemias y artrí -- ticas del cerdo. Pág. 15 (1979).
- 8.- Dedié K; Die Saurelozlichen antigene von Erysipelothrix -- rhusiopathiae. Monatschr Veterinar Med. 4: 7-10 (1949).
- 9.- Dougherty, R.W., Shuman, R.F., Ullanax, C.H., Witzel, D.A., Buck, W.B., Wood, R.L. and Cook H.M.; Physiopathological -- studies of erysipelas in pigs. Cornell vet. 55; 87 (1965)
- 10.- Dunne, H.W.,: Diseases of swine. 3th ed., The Iowa State -- University Press, Ames, Iowa, U.S.A., (1970)
- 11.- Esparza, H. y Ramírez R.; Boletín del Colegio Nacional de -- Médicos Veterinarios Zootecnistas de México. 5:17 y 50 -- (1968).

- 12.- Fechner, J.; Vacunas y vacunación de los animales domésticos. España. Editorial Acribia. 51 (1966).
- 13.- Freeman, J.N.; Effects of vaccination on development of arthritis swine with erysipelas; clinical hematologic and pathologic observations. Rev. Vet. Res. 25 (6) pág. 508--589 (1964).
- 14.- Freeman, J.N.; Effects of vaccination on the development of arthritis in swine with erysipelas: bacteriologic, immunologic, serum protein and histopathologic observation. Vet. Res. 25: 595-608 (1964)
- 15.- Harrington, R. Jr.; Transmisión of Erysipelothrix rhusiopathiae in swine by slap tattoo instrument. Am. Jour. Vet. Res. 33:1109 (1973)
- 16.- Hobart, M.J. and MacConnell, I.; The immune System. 3th. ed. Blackwell Scientific Publications. (1978).
- 17.- Hugo, B.W.; Inhibition and destruction of microbial cell - N.Y. Academic Press. U.S.A. (1971)
- 18.- Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS); Boletín epidemiológico mensual. 5(1), cuadros C-2A, C-5, C-7 (1977).
- 19.- Jennings, R.A.; Patología Animal 2da. ed. La prensa Médica Mexicana (1975)
- 20.- Kwapinski, J.B.G.; Analytical serology of microorganisms. Vol. II Ed. John Wiley and Sons, 537 (1969).
- 21.- Kudcsera, G.; Proposals for standardization of the designations used for serotypes of Erysipelothrix rhusiopathiae. Buchanan. Inst. J. Syst. Bacteriol. 23: 184-188 (1973)
- 22.- Kuschinsky, G., Lullmann, H.; Manual de Farmacología 3era ed. Ed. Marin. pag. 210 (1968).
- 23.- Lozano, S.J.L.; Exploración serológica de erisipela en México. Tesis profesional. Fac. Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M. México D.F. (1971)
- 24.- Merchant, I.A.; Bacteriología y Virología Veterinaria. España Editorial Acribia. Pag. 478 (1970).

- 25.- Murase, N. Yoichi, E; Epizootiological significance of Erysipelothrix rhusiopathiae Harbored in the tonsils - of apparently healthy pigs. Japan J. Vet. Sci. 22:1 -- (1959).
- 26.- Ose, E.E.; Evaluation of erisipela vaccines. Jour. Am. Vet. Ass. 160:603 (1972)
- 27.- Packer, A.R.; The use of sodium azide (NaN_3) and crystal violet in the selective medium for Streptococci -- and Erysipelothrix rhusiopathiae. Jor. Bact. 46: 343 - (1943).
- 28.- Papp, E. and Sikes, D.; Electrophoretic Distribution - of protein in the serum of swine with rheumatoid like-arthritis, Am. Vet. Jour. Res. 25 (107): 1112-1119 -- (1964).
- 29.- Requerimientos mínimos de calidad que deben llenar los productos biológicos para uso veterinario. Departamento de control de productos biológicos, farmaceuticos, - alimenticios y equipos para animales. Subsecretaria de Ganaderia. D.G.S.A. (1977).
- 30.- Robbins, L.S.; Patología Estructural y Funcional. Ed. Iberoamericana. pag. 75 (1975).
- 31.- Rosenwald, A.S., Dickinson, M.E.; Swine erysipelas in-turkeys. Am Jour. Vet. Res. 2: 202 (1941)
- 32.- Runnells, A. and Monlux, A.W.; Patología verterinaria lera. ed. Ed. Continental. Pag. 236 (1968).
- 33.- Shatalov, F.V.; The path of infections in Erysibelo - thrix. Veterinaya. 35:46(1962)
- 34.- Shalm, W.O.; Hematología Veterinaria. lera. ed. Ed. - Uthea. pag. 59-63 (1964).
- 35.- Sikes, D.; Some Biochemic properties of smooth colony of Erysipelothrix rhusiopathiae used for antigen production in test. Am. Jour. Vet. Res. 26; 636 91965)
- 36.- Sikes, D.; Experimental productions of rheumatoidar - thritis of swine; physiopathologic changes of tissues Am. Jour. Vet. Res. 29: 1719 (1968).

- 37.- Sikes, D. Flecher, J.O. Jones, J.T.; Agglutinating factor elud from de erythrocytes of swine with rheumatoid ar --
thritis. Am. Jour. Vet. Res. 31 (12); 2119.
- 38.- Sikes, D. Neher, M.G., Doyle, L.P.; Swine erysipelas I.-
A discusion of experimentaly disease. Am. Jour. Vet. Res.
178: 277
- 39.- Sthepheson, H.E. and Berman, T.D.; Isolation of Erysipelo
thrix rhusiopathiae from tonsil aparently normal swine -
by two methods. Am. Jour. Vet. Res. 39 (1); 187-188 (1978)
- 40.- Topley and Wilson's; Principles of bacteriology and in --
muity . London. T.I. 5th ed. Adward Arnod (publishers)ltd
(1964).
- 41.- Vargas, G.R., Jimenez, G.A.E., Diaz, R.C.; Comparaciones-
entre las pruebas de aglutinación en placa, en tubo e in-
tradermorreacción, para la detección de anticuerpos con -
tra erisipela. Memorias de la XI Reunión Anual del Inst.-
Nal. Inv. Pec. (1974).
- 42.- Walpole, E.R. and Myers, H.R.; Probabilly and statics for-
engineers and scientist. U.S.A. 3th. ed. Macmillan publi-
hing JRC (1972)
- 43.- Wasinski, K; Studies on the reversion of virulence in --
attenuated Erysipelothrix rhusiopathiae strains used for-
live vaccines. Bull. Vet. Inst. Pulawy 20:6 (1976)
- 44.- Williams Rojas; Inmunología. España. 3ed. ED.
Acribia. Fondo Educativo Internacional.
- 45.- Wood, L.R.; A reactive liquid medium utilizing antibio --
tics for isolation for Erysipelothrix insidiosa. Am. Jour.
Vet. Res. 26:1303
- 46.- Wood, L.R., Harrington, R.; Serotypes of Erysipelothrix -
rhusiopathiae isolated from swine and from soil and ma --
nure of swine pens in the Unites States. Am. Jour. Vet. -
Res. 39 (11): 1833 (1978).

