



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TRATAMIENTO DE LA SALMONELOSIS EN LECHONES CON INMUNOGLOBULINAS SERICAS ESPECIFICAS ADMINISTRADAS POR VIA ORAL Y SISTEMICA



VETERINARIA Y
ZOOTECNIA

T E S I S

Que para obtener el título de:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P r e s e n t a

MIGUEL PARRA SOTO

Asesores: M.C. HECTOR BARBOSA NAJERA
M.V.Z. JORGE R. LOPEZ MORALES



México, D. F.

1985



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.

Tratamiento de la salmonelosis en lechones
con inmunoglobulinas séricas específicas
administradas por vía oral y sistémica.

Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
de la
Universidad Nacional Autónoma de México
para la obtención del título de
Médico Veterinario Zootecnista
por
Miguel Parra Soto
Asesores: M.C. Héctor Barbosa Nájera
M.V.Z. Jorge R. López Morales.
México, D.F., Julio 20 de 1985

R E S U M E N

PARRA SOTO, Miguel. Tratamiento de la salmonelosis en lechones con inmunoglobulinas séricas específicas administradas por vía oral y sistémica, (bajo la dirección de Héctor Barbosa N. y Jorge R. López M.).

Se inmunizaron tres cerdos adultos por ocho ocasiones, con un extracto crudo de Salmonella choleraesuis, las dos primeras con Adyuvante Completo de Freund (ACF), y las seis restantes sin adyuvante, a intervalos de 15 días. Ocho días después del último estímulo antigénico los cerdos se sacrificaron en el rastro, se colectó su sangre y del suero se precipitaron las inmunoglobulinas, que resultaron tener buena actividad cuando se probaron in vitro (immunolectroforesis). Tres camadas de lechones de siete días de edad fueron desafiadas con 2.7×10^{11} Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de Salmonella choleraesuis, y fueron posteriormente observados en forma cuidadosa. 84 horas después del reto el 100% de los animales presentó signos de la enfermedad. La mitad de los individuos de cada camada recibió inmunoglobulinas, a razón de 3 g por vía oral y 1 g por vía intramuscular diariamente durante siete días. Los lechones restantes quedaron sin tratamiento a manera de control. La observación se suspendió al momento del destete. La severidad de la enfermedad fue la misma -- tanto en lechones experimentales como en los controles, y la mortalidad fue del 61% en ambos grupos. Se concluye que la seroterapia a la dosis utilizada no resulta eficaz.

Julio 20 de 1985.

DEDICATORIAS

A MIS PADRES, DE QUIENES SIEMPRE RECIBI TODO
SU APOYO.

A MIS HERMANOS, A QUIENES DEBO GRAN PARTE
DE MIS LOGROS.

A LA MEMORIA DE FRANCIS.

A G R A D E C I M I E N T O S

AL INTERNADO DE LA GRANJA ZAPOTITLAN, GRAN APOYO
EN MI FORMACION PROFESIONAL.

AL DR. HECTOR BARBOSA, POR LA AYUDA INCONDICIONAL
QUE SIEMPRE ME BRINDO.

A TODAS LAS PERSONAS QUE AMABLEMENTE COLABORARON
EN LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO.

C O N T E N I D O

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
MATERIAL Y METODOS.....	6
RESULTADOS.....	12
DISCUSION.....	22
CONCLUSIONES.....	24
LITERATURA CITADA.....	25

INTRODUCCION

La industria porcina en México es una de las actividades pecuarias más importantes, prueba de ello es que nuestro país ocupa el séptimo lugar a nivel mundial en cuanto a población porcina, además la carne de cerdo figura en primer lugar en la preferencia del consumidor nacional en lo referente a -- productos pecuarios (5).

Sin embargo, es frecuente encontrar que en la mayoría de las explotaciones porcinas del país prevalecen sistemas de producción rudimentarios, lo cual se refleja en problemas sanitarios sumamente graves, entre los que destacan: diarreas, neumonías, cólera porcino y enfermedad de Aujeszky, la mayor parte de estos padecimientos se tratan en forma irracional y empírica (8).

Una de las principales causas de pérdidas económicas en las explotaciones porcinas, la constituye la elevada mortalidad de lechones durante la etapa de lactancia, que puede llegar a ser desde un 20 hasta 30% (18, 50, 51). El período más crítico para estos es durante los primeros seis días de vida (18, 51). Las situaciones que influyen sobre su mortalidad son muy variadas, el peso al nacer, el número de ellos por camada y el período de lactancia, son factores predisponentes que afectan a los porcentajes de mortalidad (50).

La diarrea neonatal es la causa más frecuente de mortalidad en cerdos lactantes (11). El síndrome diarreico se presenta desde un 10 hasta un 80%, dependiendo de las condiciones zoonosanitarias de la granja (33), en las que la colibacilosis, la gastroenteritis transmisible, la rotavirus, la enteritis necrótica y la salmonelosis están involucradas más comunmente en nuestro medio (12), y que pueden causar bajas de un 10% aproximadamente, además de que aumentan los costos de producción por concepto de mano de obra y medicación (33).

El lechón recién nacido es sumamente susceptible a las enfermedades gastrointestinales, ya que es deficiente fisiológicamente en el control térmico, por lo que requiere de una fuente de calor; esta situación se torna crítica debido a

la hipoglucemia a la que es susceptible durante los primeros días de vida (12). Además, para su defensa contra las infecciones, depende en gran medida de las gamma-globulinas que le provee la madre por medio del calostro y la leche, ya que nace carente de éstas y a temprana edad todavía no es capaz de montar una respuesta inmune sólida (33, 42). Se ha comprobado que lechones privados de calostro y leche maternas y sin proporcionarles ninguna fuente de anticuerpos no son capaces de sobrevivir más de 48 horas en un medio ambiente convencional (43).

La salmonelosis en cerdos lactantes ataca generalmente de los siete días de vida hasta el destete (44). En un estudio bacteriológico de lechones enfermos, efectuado en México, Salmonella spp fue aislada de un 2% de los casos (46).

El género Salmonella se encuentra ampliamente difundido en la naturaleza, ya sea por vectores biológicos, reservorios o fomites, se puede encontrar contaminando agua, harinas de carne, de hueso y pescado; en paredes, piedras u otros materiales contaminados con heces puede sobrevivir más de 307 días y en pastos hasta más de siete meses (14, 42).

Uno de los principales serotipos de Salmonella adaptado al cerdo es Salmonella choleraesuis, es también de importancia como agente patógeno potencial para esta especie Salmonella typhisuis (1, 12, 28, 42). La vía de entrada usual de la Salmonella es oral, mediante el alimento, agua o heces --- (14). Una vez establecida la infección, la enfermedad puede manifestarse en dos formas: entérica y/o septicémica (14, 42). La forma septicémica es la que causa mayor mortalidad y es la más común en lechones (42), y la forma entérica se presenta con mayor frecuencia en cerdos en crecimiento, finalización o adultos (14, 42, 45).

El animal puede encontrarse infectado con una gran variedad de serotipos de Salmonella en calidad de portador sano (7). Gallegos (16) encontró Salmonella spp en vesícula biliar de cerdos aparentemente sanos en un 13% de las muestras estudiadas, McKinley (34) aisló Salmonella spp en 7 de 9 ras-

tros muestreados y en 3 de 19 unidades de producción muestreadas; así mismo, Keteran (25) aisló el mismo agente del 58.2% de individuos aparentemente sanos y del 31.3% de las canales para abasto, y Campo (9) en Cuba encontró una prevalencia que va del 79.6 al 93% de portadores sanos de Salmonella typhimurium y de Salmonella paratyphi. Estos hallazgos revisten una gran importancia de salud pública, puesto que los problemas -- gastrointestinales constituyen la causa número uno de defunciones humanas en nuestro país (13, 33).

Los serotipos de Salmonella adaptados a una especie animal dada son generalmente menos patógenos para el hombre, -- una excepción es Salmonella choleraesuis, que produce una enfermedad grave, con un cuadro septicémico, que puede llegar a causar hasta un 20% de mortalidad en el humano (1). El problema se agrava aún más ante la aparición de cepas bacterianas resistentes a los agentes quimioterapéuticos (30). Ishiguro (23) encontró que de 475 cepas de Salmonella, 348 (73.2%) fueron resistentes a uno o más antibióticos. En otro estudio, Crevenna (10) aisló Salmonella typhi en 153 casos de niños enfermos para confirmar el diagnóstico de tifoidea, resultando 133 muestras resistentes al cloranfenicol. Las bacterias pueden adquirir resistencia a los agentes quimioterapéuticos gracias a dos mecanismos: mutación y adquisición de plásmidos que codifican resistencia (plásmidos R) (24, 29, 30, 38). Los plásmidos R -- pueden contener genes responsables de la resistencia a seis o más antibióticos, las bacterias poseen un apéndice accesorio -- llamado pilus sexual, que es capaz de perforar las células bacterianas vecinas, y por el cual el plásmido R puede ser transmitido, al finalizar la transferencia ambas bacterias son resistentes (24, 30). Esta situación se favorece ante el evidente uso indiscriminado de los antibióticos y quimioterapéuticos tanto en humanos como en medicina veterinaria, donde se usan -- en este último renglón para fines terapéuticos y como promotores del crecimiento (47), esto permite la consecuente selección de bacterias multirresistentes, lo que constituye una grave amenaza para la población humana (30). Por lo cual se bus--

can nuevas perspectivas en el tratamiento de las enfermedades bacterianas.

La idea de usar inmunoglobulinas séricas en la prevención y el tratamiento de las enfermedades gastrointestinales resulta muy tentadora, puesto que no sería difícil acoplar la industria pecuaria a la de producción de antisueros, con la ventaja de que podría ser muy económico, y se estaría aprovechando un subproducto pecuario como es la sangre (6).

En estudios recientes se ha demostrado que el uso de inmunoglobulinas séricas específicas ha resultado exitoso en la prevención de la salmonelosis (20, 35), mas no se ha logrado éxito cuando las inmunoglobulinas se administran como tratamiento en un caso de salmonelosis ya establecido (19), en esta investigación la necropsia reveló que los cuadros manifestados en los lechones infectados fueron en la forma mixta (entérica y septicémica). Dado que las inmunoglobulinas y el desafío con el agente patógeno se administraron a lechones de siete días, en los cuales ha cesado la absorción de macromoléculas en el intestino (37), se puede presumir que los anticuerpos permanecen en la luz intestinal y que por tanto son incapaces de actuar en un cuadro septicémico, para estudiar tal probabilidad se planteó el siguiente estudio.

OBJETIVO

Estudiar si la administración en lechones de inmunoglobulinas séricas específicas contra Salmonella choleraesuis neutraliza y elimina el agente patógeno y puede utilizarse como un método de tratamiento en lugar de los antibióticos.

MATERIAL Y METODOS

DISEÑO EXPERIMENTAL:

26 lechones repartidos en tres camadas a los siete días de edad fueron desafiados por vía oral con 2.7×10^{11} Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de Salmonella choleraesuis, se vigilaron en forma estrecha y al aparecer los primeros signos de la enfermedad, el 50% de cada camada se le administró inmunoglobulinas séricas específicas por vía oral y sistémica a razón de 3 g por vía oral repartidas en dos tomas al día, durante siete días y 1 g por vía intramuscular diariamente durante el mismo período de tiempo. La otra mitad de los individuos quedó sin tratamiento a manera de control (cuadro 1).

Los lechones se vigilaron en forma cuidadosa desde el momento del reto, se registró en forma individual datos como temperatura corporal, consistencia de las heces y condición general del animal. Se tomaron muestras de heces y sangre para realizar exámenes bacteriológicos. A los lechones que murieron como consecuencia de la enfermedad se les realizó la necropsia y se tomaron muestras de hígado y bazo para realizar el aislamiento del agente patógeno. La observación se interrumpió al destetar los animales.

ANTIGENO:

BACTERIA: Se utilizó una cepa de Salmonella choleraesuis aislada en el Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

El antígeno se obtuvo de acuerdo al método de Tato et al (49) que se describe a continuación: Se sembró una pequeña cantidad de bacterias en 50 ml de caldo soya tripticasa incubando toda la noche a 37°C; se resembró en siete litros de caldo soya tripticasa el cual se incubó a 37°C durante cuatro horas.

Las células se cosecharon por centrifugación a 16 000 x g durante 15 minutos a 40°C en una centrífuga Sorvall RC-2B. Las células se resuspendieron en acetona fría previamen-

te deshidratada con cloruro de calcio. La suspensión se agitó por 10 minutos y se filtró posteriormente a través de un filtro de vidrio usando una bomba de vacío, este paso se repitió dos veces. Finalmente las células se lavaron en cloroformo - - frío de la misma manera. Para evaporar los residuos de cloroformo, el polvo se dejó durante 48 horas en una cámara de vacío.

El polvo bacteriano se resuspendió en una solución salina isotónica amortiguada con fosfatos (PBS) 0.01 M, pH 7.2 conteniendo cloruro de magnesio 0.012 M, sacarosa 0.012 M, deoxicolato de sodio 0.4% y cloruro de potasio 0.1 M. Por último se agregó desoxirribonucleasa a concentración final de 20 µg/ml. Después de una hora de incubación a 38°C en agitación constante, el material se dializó durante tres días con cambios -- frecuentes de PBS.

La mezcla dializada se centrifugó a 36 000 x g durante 15 minutos a 4°C, el producto final se utilizó para inmunizar a los cerdos.

ADYUVANTE:

Se utilizó adyuvante completo de Freund para inmunizar a los cerdos adultos. Se preparó mezclando 85 partes de -- aceite mineral con 15 partes de lanolina y 15 mg/ml de Mycobacterium tuberculosis H 37 Rv esterilizado en autoclave y liofilizado. Para la inmunización se mezclaron volúmenes iguales de antígeno y adyuvante.

CULTIVO PARA EL DESAFIO DE LOS LECHONES:

Se cultivó Salmonella choleraesuis en 800 ml de caldo de soya tripticasa más agar al 1.5%, se incubó toda la noche a 37°C. Las bacterias se cosecharon en PBS y se conservó -- la suspensión en hielo hasta el desafío.

El número de bacterias se determinó leyendo la densidad óptica de la suspensión en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 550 nm. Se conoce que la densidad de 0.1 comprende aproximadamente 10^6 bacterias. El número de bacterias -- viables se determinó sembrando diferentes diluciones en cajas-

de Petri conteniendo el mismo medio de soya, las cajas se dejaron incubar durante 18 horas para contar después el número de colonias.

LECHONES PARA EL DESAFIO:

Se utilizaron para el desafío. tres camadas de lechones híbridos Hampshire-Duroc. Diez días antes del parto las marranas se colocaron en aislamientos previamente lavados con jabón y desinfectados con gases producto de la combinación de formaldehído y permanganato de potasio.

Se atendieron los partos, y los lechones se marcaron en las orejas para su identificación. Se mantuvieron con fuente de calor y al tercer día a cada lechón se le aplicó 200 mg de hierro dextrán por vía intramuscular.

Se permitió una lactancia normal. A las marranas se les proporcionó alimento de lactante en cantidad proporcional al tamaño de la camada.

PRODUCCION DEL SUERO HIPERINMUNE:

Se utilizaron tres cerdos híbridos Yorkshire-Landra de cuatro meses de edad, provenientes de la Granja Experimental Porcina "Zapotitlán", de la Fac. de Med. Vet. y Zoot. de la UNAM, para la producción de suero hiperinmune específico contra S. choleraesuis. Se inmunizaron con un extracto crudo de S. choleraesuis durante ocho ocasiones a intervalos de 15 días, a una dosis de 5 mg de proteína por estímulo antigénico. Las dos primeras inmunizaciones fueron hechas con adyuvante -- completo de Freund a volúmenes iguales, por vía subcutánea en la base de la oreja y las seis restantes se hicieron sin adyuvante por vía intramuscular en la pierna.

Ocho días después del último estímulo antigénico, -- los cerdos se sacrificaron en el rastro y la sangre se colectó para obtener las inmunoglobulinas.

Se mantuvo un lote control con el mismo número de -- animales, al que se le dió el mismo manejo y alimentación que a los cerdos inmunizados.

OBTENCION DE LAS INMUNOGLOBULINAS:

La sangre colectada de los cerdos sacrificados en el rastro se dejó coagular a temperatura ambiente, para después - mantenerla a 4°C durante 24 horas y así permitir la máxima retracción del coágulo. El suero se separó por decantación y se-centrifugó a 1500 rpm durante 15 minutos a 4°C para eliminar - residuos celulares.

La separación de las inmunoglobulinas del suero se - llevó a cabo por precipitación con sulfato de amonio a concen-tración final de 33%. Este método consiste en añadir lentamen-te al suero en constante agitación una solución saturada de -- sulfato de amonio (pH 8.0), en proporción de una parte de sul-fato por dos partes de suero. La mezcla se centrifuga a 6000 - rpm durante 20 minutos a 4°C, se elimina el sobrenadante y se-resuspende el precipitado en agua destilada volviendo a agre-gar la solución saturada de sulfato de amonio y de nuevo se -- centrifuga. Esto se repite hasta que el sobrenadante sea trans-parente. El precipitado se resuspende en PBS, para después dializar contra la misma solución para eliminar el sulfato de amonio. La fracción de inmunoglobulinas que se utilizó para admi-nistrarse por vía oral se conservó en congelación hasta su - - uso, y la parte que se utilizó para inyectarse por vía intra-muscular se esterilizó por medio de filtración con un filtro - Millipore de membrana de 0.45µ y posteriormente se irradió -- con luz ultravioleta durante 2 horas. Se envasó en forma esté-til para después congelarse hasta su uso.

INMUNOELECTROFORESIS:

Ocho días después de cada estímulo antigénico, se -- sangraron los cerdos para evaluar el nivel de anticuerpos pro-ducidos. Se obtuvieron aproximadamente 15 ml de sangre de la - vena de la oreja, y se dejó reposar en refrigeración a 4°C, -- posteriormente se eliminó el coágulo y se centrifugó a 2000 -- rpm durante 25 minutos para separar el suero, con el cual se - realizó una prueba de inmunolectroforesis (52).



AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE LA SALMONELLA EN LOS ANIMALES- INFECTADOS:

COPROCULTIVO: Se tomaron muestras rectales al 100% - de los lechones, utilizando hisopos estériles, los hisopos se mantuvieron sumergidos en caldo selenito contenido en tubos de ensayo, los cuales se incubaron a 37°C durante 24 horas. Posteriormente se resembraron en medios sólidos en placas, los cuales se incubaron por 24 horas a 37°C. Para la identificación - de la Salmonella se realizaron las siguientes pruebas bioquímicas: urea, citrato, movilidad, producción de ácido sulfhídrico, formación de indol, fermentación de glucosa, fermentación de la lactosa, producción de gas, descarboxilación de la lisina, rojo de metilo, malonato y alfa naftol.

HEMOCULTIVO: Se tomaron muestras de sangre de la vena yugular con jeringas estériles, y posteriormente se sembraron en placas con medios de cultivos sólidos, y se realizaron las pruebas bioquímicas mencionadas.

ORGANOS: De los lechones muertos se tomaron muestras de bazo e hígado; esto se hizo lo más pronto posible después - de la muerte. Las muestras se sumergieron en caldo soya tripti casa, en frascos estériles donde se incubaron por 24 horas a - 37°C. Posteriormente se resembraron en medios sólidos para después realizar las pruebas bioquímicas.

CUADRO 1.- DISEÑO EXPERIMENTAL

Días de nacidos

7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21--28

No. de camada		EVENTOS		
1	50% exp.	R	T	al aparecer signos clínicos.
	50% cont.	R	ST	
2	50% exp.	R	T	al aparecer signos clínicos.
	50% cont.	R	ST	
3	50% exp.	R	T	al aparecer signos clínicos.
	50% cont.	R	ST	

Exp.= experimentales Cont.= controles R= reto T= tratamiento ST= sin tratamiento.

RESULTADOS

ANIMALES: Los partos fueron normales, nacieron un total de 28 lechones en las tres camadas, el peso al nacer fue adecuado - lo que les permitió desarrollarse sanos hasta el momento del desafío; los animales fueron observados en forma cuidadosa -- hasta el momento del destete. Las cerdas no mostraron signos clínicos de la enfermedad en ningún caso, y al finalizar la lactancia se desecharon para el abasto.

PRODUCCION DEL SUERO HIPERINMUNE:

Los cerdos adultos inmunizados para obtener el suero hiperinmune respondieron en forma correcta a los estímulos antigénicos sin sufrir alteraciones en la ganancia de peso. - Como se observa en el cuadro 2, tanto los cerdos control como los inmunizados alcanzaron el peso adecuado en la edad requerida para su salida a mercado.

INMUNOELECTROFORESIS:

Las pruebas de inmunolectroforesis realizadas, revelaron numerosas bandas de precipitación, con lo que se comprobó que los cerdos inmunizados respondieron en forma correcta produciendo anticuerpos específicos capaces de reaccionar in vitro lo cual se ilustra en la figura 1 que nos muestra -- que el antígeno está constituido por diferentes moléculas.

AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE LA Salmonella:

De los animales infectados se tomaron muestras para aislar e identificar el agente patógeno, se logró en el 72.7% de los coprocultivos, 100% de los hemocultivos y el 42.8% de las muestras de órganos. Los resultados de las pruebas bioquímicas fueron los siguientes:

Descarboxilación de la lisina	Positivo
Fermentación de la glucosa	Positivo
Fermentación de la lactosa	Negativo
Producción de gas	Positivo

Formación de indol	Negativo
Producción de ácido sulfhídrico	Positivo
Citrato	Negativo
Urea	Negativo
Rojo de metilo	Positivo
Alfa naftol	Negativo
Movilidad	Positivo
Malonato	Negativo

DESAFIO DE LAS CAMADAS CON LA CEPA DE Salmonella:

El número de bacterias viables utilizadas para el desafío fue de 2.7×10^{11} UFC. Antes de realizar el reto murieron dos lechones por aplastamiento en una de las camadas. Los primeros lechones con signos clínicos de la enfermedad fueron detectados a las 36 horas postdesafío, esto se muestra en forma detallada en los cuadros 3, 4 y 5. El tratamiento se inició inmediatamente después de la detección de la enfermedad.

En el lote control como en el experimental, el inicio de la enfermedad fue a las 36 horas después de la exposición, alcanzándose un 100% de morbilidad a las 84 horas, como se observa en la figura 2. La presentación de la enfermedad -- fue principalmente en la forma mixta (entérica y septicémica). Sólo dos lechones del grupo control presentaron la forma septicémica, murió uno de ellos a las 48 horas y el otro a los 7 -- días después del reto. La severidad de la enfermedad fue la -- misma tanto en lechones del grupo control como del experimental, y el número de ellos muertos en ambos grupos fue idéntico, ya que murieron ocho animales de cada grupo lo que representa el 61% de mortalidad para ambos grupos (figura 3).

Las lesiones encontradas en los animales que se les realizó la necropsia se describen en el cuadro 6.

CUADRO 2.- Edad y peso de los cerdos adultos utilizados para la producción de suero hiperinmune anti-Salmonella

No de inmunización		1	2	3	4	5	6	7	8
EDAD EN DIAS:		120	130	145	160	174	189	204	211
No. ANIMAL:		PESO (Kg)							
LOTE EXPERIMENTAL	1	50	59	68	78	89	99	109	114
	2	55	69	80	88	97	112	118	120
	3	57	69	80	88	96	108	114	116
	$\bar{X}$	54	65.5	76	84.6	94	106.3	113.6	116.6
LOTE CONTROL	1	53	63	72	83	90	104		
	2	63	72	80	85	93	104		
	3	56	65	75	87	93	105		
	$\bar{X}$	57.3	66.6	75.6	85	92	104.3		

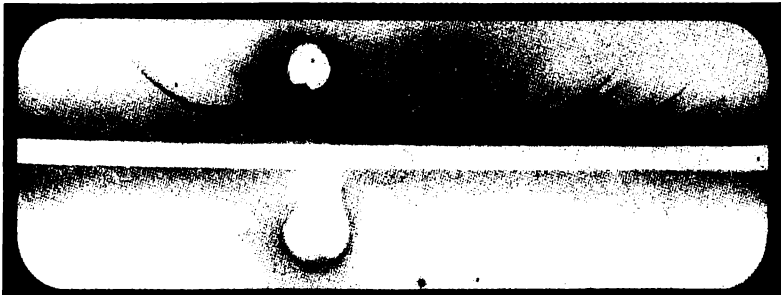


Fig. 1.- Immunoelectroforesis en la que se colocó en el orificio una muestra del extracto antigénico - de S. choleraesuis, después de la electroforesis se añadió en el canal suero de los cerdos-inmunizados, se incubó 24 horas a temperatura-ambiente. Nótese que los cerdos respondieron - abundantemente ya que reconocen más de 20 antí-genos diferentes.

**CUADRO 3.- Registro individual de la signología
clínica después del desafío.**

CAMADA 1		Días de nacidos														
Lechón No.	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22 - 28
EXPERIMENTAL	1	R	fd	D	M											
	2	R	fd	fd	D	M										
	3	R			D	Df	D	D	D	D	D	M				
	4	R	fd	Df	Df	Df	D	M								
CONTROL	5	R	f	fd	fd	f	f	f	f	f	f	D	D	A	Hasta destete.	
	6	R	f	fd	fd	Df	D	D	D	D	Dd	Dd	Dd	Df	M	
	7	R	f	f	D	D	D	D	M							
	8	R	fd	Df	M											
R= reto f= fiebre D= diarrea d= disnea M= muerte A= asintomático.																

CUADRO 4.- Registro individual de la signología
clínica después del desaffo.

CAMADA 2		Días de nacidos																
Lechón No.	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22 - 28		
EXPERIMENTAL	1	R		D	D	D	D	D	D	D	A	Hasta destete.						
	2	R		df	df	D	D	D	A	Hasta destete.								
	3	R		Df	D	D	D	D	D	D	D	D	A	Hasta destete.				
	4	R		D	D	A	Hasta destete.											
	5	R			Df	D	A	A	D	D	Df	D	D	A	Hasta destete.			
CONTROL	6	R			f	df	A	A	D	D	D	D	D	D	D	D	D	
	7	R		f	df	f	Df	f	f	f	D	D	D	Df	Df	Df	Df	Df
	8	R		M														
	9	R			f	Df	f	A	D	D	Df	D	D	A	Hasta destete.			
	10	R			D	D	A	Hasta destete.										
	11	R		f	f	f	f	f	M									
R= reto f= fiebre D= diarrea d= disnea M= muerte A= asintomático.																		

CUADRO 5.- Registro individual de la signología
clínica después del desafío.

CAMADA 3		Días de nacidos															
Lechón No.		7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22 - 28
EXPERIMENTAL	1	R			D	D	D	M									
	2	R			Df	D	D	D	D	D	D	M					
	3	R			D	D	D	M									
	4	R			f	D	D	D	D	D	D	M					

CONTROL	5	R		fv	D	D	D	D	M								
	6	R			D	D	D	M									
	7	R			D	D	D	D	Df	M							

R= reto f= fiebre D= diarrea v= vómito M= muerte.

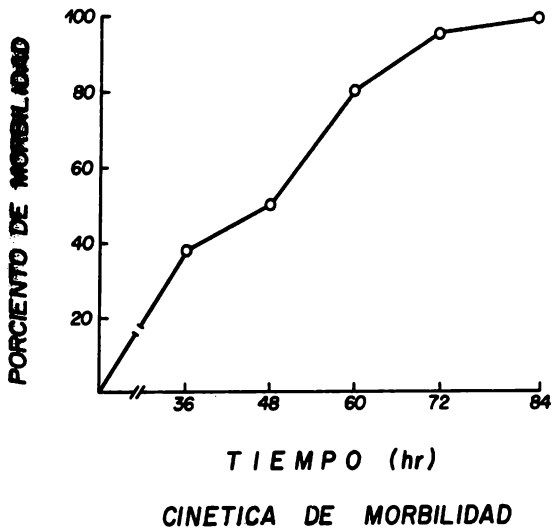


Fig. 2.- La reproducción de la enfermedad se realizó exitosamente: Los primeros animales enfermos se registraron a las 36 horas y a las 84 horas el -- 100% estaba enfermo.

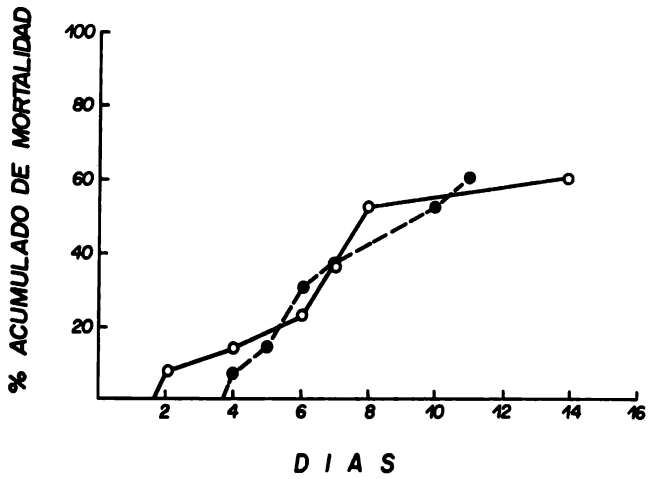


Fig. 3.- La administración de inmunoglobulinas a las dosis utilizadas no originó ningún cambio en el desarrollo de la enfermedad; ya que el grupo control (o) sigue una cinética de mortalidad similar a la del grupo experimental (●).

**CUADRO 6 Porcentaje de las principales lesiones macros-
cópicas encontradas en los lechones a los que-
se les practicó la necropsia.**

Ganglios linfáticos en general se encontraron aumentados de volúmen y congestionados.....	85.7%
Abscesos en las tonsilas.....	14.2%
Gastroenteritis catarral.....	92.8%
Úlceras en el estomago.....	21.4%
Gastroenteritis hemorrágica.....	14.2%
Hígado friable.....	21.4%
Bilis espesa y oscura.....	71.4%
Neumonía.....	57.1%
Bazo infartado.....	14.2%
Petequias en la superficie renal.....	78.5%
Vejiga urinaria hemorrágica.....	14.2%

DISCUSION

Aunque la respuesta inmune de un mamífero hacia un agente patógeno resulta un evento fácil de observar en la actualidad, es difícil predecir las diferentes respuestas entre individuos y aún más manipular dicha respuesta.

La relación huésped-parásito es un evento más complejo, puesto que no se conocen totalmente los mecanismos de agresión de muchos parásitos.

La respuesta inmune contra las bacterias resulta habitualmente en la presencia de anticuerpos específicos con actividades antibacterianas observables (aglutinación, opsonización, lisis, etc.). La respuesta inmune mediada por células puede también demostrarse en una relación bacteriana. Un caso especial lo constituyen las relaciones con bacterias intracelulares y hongos, donde existen fenómenos de hipersensibilidad con lesiones al huésped y además en muchas ocasiones se observan aparentes contradicciones entre la respuesta inmune humoral y la respuesta celular, de tal manera que los anticuerpos resultan ser perjudiciales al huésped (17, 31, 32). La salmonelosis es una enfermedad ampliamente estudiada en la que se observa una respuesta inmune celular, donde la fagocitosis se incrementa (15, 22, 40, 41), además se observa una respuesta inmune mediada por anticuerpos que han probado ser efectivos, la transferencia de linfocitos B de animales inmunes a receptores normales correlaciona adecuadamente con este hecho (2, 21, - - 27). Sin embargo, existen también fenómenos no comprendidos, como son el encontrar títulos de anticuerpos hacia diferentes antígenos de Salmonella sin que correlacionen con protección, al igual que fenómenos de hipersensibilidad tardía (3, 48).

En el presente trabajo se logró reproducir la enfermedad administrando las bacterias por vía oral tal como sucede normalmente. Sin embargo, el tratamiento con inmunoglobulinas séricas resultó aparentemente sin valor, dado que no se observó diferencia entre la mortalidad del grupo experimental comparativamente al control (figura 3).

Aunque se conoce que las infecciones intestinales in

ducen la formación de anticuerpos de la clase IgA, se conoce también que la IgG puede actuar a nivel de mucosa entérica impidiendo la adherencia bacteriana (4, 39), o su penetración a las células en el caso de las bacterias intracelulares. En el caso de salmonelosis, la penetración celular es un fenómeno -- controvertido, pero experimentalmente se ha comprobado que la bacteria puede penetrar a las células (26).

La presencia de anticuerpos específicos a nivel de mucosas puede prevenir la salmonelosis (18, 35), pero en este trabajo se permitió primero la infección y la septicemia se -- produjo antes de la administración de anticuerpos, por lo que es discutible si la cantidad de anticuerpos administrada fue -- suficiente para ayudar a eliminar las bacterias, puesto que -- cuando se administró como medida preventiva la dosis de inmunoglobulinas (20) fue similar, y debemos suponer que estos pudie ron controlar 2×10^{11} bacterias, número que indudablemente es -- mínimo si se compara con el número de bacterias que pueden estar presentes en una septicemia.

Por otra parte, resulta interesante también el número de animales que aparentemente lograron controlar la infección y sanar. A este respecto, es pues necesario estudiar el -- estado inmune de las madres, ya que resulta interesante el tener 100% de mortalidad en una de las camadas y sólo el 18% en otra.

Estos factores son de suma importancia para tomarlos en consideración en posteriores estudios de protección o tratamiento de enfermedades con inmunoglobulinas.

CONCLUSIONES

Es posible utilizar a los cerdos de engorda para la producción masiva de sueros hiperinmunes sin llegar a ocasionar alteraciones en la ganancia de peso normalmente esperada.

Administrando 2.7×10^{11} bacterias fue posible reproducir la enfermedad en el 100% de los animales estudiados. El cuadro clínico manifestado en los lechones reveló que la enfermedad adoptó una forma mixta (entérica y septicémica) lo que fue confirmado con las pruebas de laboratorio.

El curso y la severidad de la enfermedad no se alteraron con la administración de inmunoglobulinas; los porcentajes de mortalidad fueron iguales para ambos grupos, por lo que se puede concluir que los anticuerpos administrados por vía oral y sistémica no fueron capaces de combatir la enfermedad.

En futuros trabajos similares a éste, es conveniente verificar el estado inmune de las madres, con el fin de eliminar esta variable.

LITERATURA CITADA

1. Acha, P.N. y Szyfres, B.: Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Organización Panamericana de la salud, Washington, 1977.
2. Angerman, C.R. and Eisenstein, T.K.: Comparative efficacy - and toxicity of a ribosomal vaccine, Acetone-killed cells, - Lipopolysaccharide, and a live cell vaccine prepared from Salmonella typhimurium. Infect. Immun., 19: 575-582 (1978).
3. Angerman, C.R. and Eisenstein, T.K.: Correlation of the duration and magnitude of protection against Salmonella infection afforded by various vaccines with antibody titers. Infect. Immun., 27: 435-433 (1980).
4. Asquit, P.: Immunology of the gastrointestinal tract. Ed. - Churchill, London, 1979.
5. Bachtold, E., Aguilar, A., Alonso, F., Juárez, J., Casas, - V. M., Meléndez, R., Huerta, E., Mendoza, E. y Espinoza, -- A.: Economía Zootécnica. Ed. Limusa, México, 1982.
6. Barbosa, H., Ravines, J., Garza, J. y Larralde, C.: Producción masiva de anticuerpos comerciales en cerdos. Tec. Pec. en Méx., 41: 45-52 (1981).
7. Blackburn, B.O. and Harrington, R.: Salmonella and Arizona-serotypes from animals and related sources reported during fiscal year 1979. Proceedings of the U.S. Animal Health Association, 84: 452-470 (1980).
8. Bravo, F.: Situación actual de la porcicultura en México; - análisis y perspectivas. Porcirama, 9: 53-59 (1984).
9. Campo P., R., Campo P., E., Lemus, M. e Inojosa, Y.O.: Frecuencia de portadores sanos y edades de presentación en la salmonelosis del cerdo. Ciencia y Técnica en la Agricultura 2: 7-14 (1980).
10. Crevenna, P.B. y Buendía, A.: Cambios en la epidemiología - de la tifoidea. Rev. Sal. Públ. Méx., 15: 839-847 (1973).
11. Eliassen, A.: Aplicación de la ingeniería genética en la prevención de la colibacilosis entérica. Porcirama, 9: 5-10 -- (1984).

12. Estrada C., A. y Enríquez E., E.: Diagnóstico simplificado de las diarreas infecciosas más comunes en lechones. Estudio recapitulativo. Vet. Méx., 14: 93-102 (1983).
13. Fernández C., J.: Vacunas entéricas. Rev. Sal. Públ. Méx. - 21: 307-319 (1979).
14. Flores C., J.: Salmonelosis. Porcirama, 8: 13-26 (1983).
15. Galdiero, F., Benedetto, N., Quarto, N. and Romano, C.: cellular response in Salmonella Typhimurium-infected mice: -- evaluation of Salmonella receptors of B lymphocytes: In---fect. Immun. , 21: 349-353 (1978).
16. Gallegos B., V.: Aislamiento de Salmonella spp en vesícula biliar de cerdos aparentemente sanos. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. UNAM. México, D.F., 1970.
17. González Ochoa, A.: Immunological aspects of Actinomyce---tos, Mycetoma and Nocardia. Excerpta Médica, 55: 542 - - - (1962).
18. Guerra G., M.X.: Manejo básico para la producción de cer---dos para abasto. Porcirama, 9: 5-13 (1984).
19. Guerrero O., D.L.: tratamiento de la salmonelosis en cer---dos con inmunoglobulinas séricas administradas por vía - - oral. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot., -- UNAM. México, D.F., 1984.
20. Guevara Mata, R.: Inmunidad a Salmonella choleraesuis en - lechones protegidos con inmunoglobulinas séricas adminis---tradas por vía oral. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. - Vet. y Zoot., UNAM. México, D.F., 1983.
21. Hochadel, J.F. and Keller, K.F.: Protective effects of pa---sively transferred immune T or B lymphocytes in mice in---fected with Salmonella typhimurium. J. Inf. Dis., 135: 813 -823 (1977).
22. Hormaeche, G.E., Fahrenkrog, M.C., Pettifor, R.A. and - -- Brock, J.: Acquired immunity to Salmonella typhimurium and delayed (footpad) hypersensitivity in BALB/C mice. Immunol., 43: 547-554 (1981).
23. Ishiguro, N., Goto, J. and Sato, G.: Genetical relation --ship between R plasmids derived form Salmonella and E.coli

- obtained from a pig farm and its epidemiological significance. J. of Hyg., 84: 365-379 (1980).
24. Jimenez De Lara, J.A.: El factor y la resistencia bacteriana a los antibióticos agregados a los alimentos de los animales. Porcira, 8: 14-16 (1983)
 25. Keteran, K., Brown, J. and Shotts, E.B.: Salmonella in the mesenteric lymph nodes of healthy sows and hogs. Am. J. -- Vet. Res., 43: 706-707 (1982).
 26. Kihlstrom, E.: Infection of HeLa cells with Salmonella typhimurium 395 MS and MR 10 bacteria. Infect. immun., 17: 290-295 (1977).
 27. Kita, E. and Kasiba, S.: Immunogenicity of the ribosomal fraction of Salmonella typhimurium: Analysis of humoral immunity. Infect. Immun., 27: 197-203 (1980).
 28. Linton A., H.: Salmonellosis in pigs. Pig News and Information, 2: 25-28 (1982).
 29. Linton A., H.: Antibiotic resistance in veterinary practice. In Practice, 4: 11-15 (1982).
 30. López-Alvarez, J.: La resistencia bacteriana a los antibióticos constituye un problema serio de salud pública. MVZ - Noticias, 4: 1, 8-9 (1981).
 31. Machaness, G.B.: Immunological aspects of acquired cellular resistance. J. of Exp. Med., 120: 105 (1964).
 32. Mahgaub, S.: Serologic diagnosis of Mycetomas. Proceeding 3ed. International Conference of Actinomycetos. Sao Paulo, 1975, pag. 154.
 33. Martell, M.A. y Pérez, F.: Aspectos de la medicina preventiva en el síndrome diarreico del lechón. Memorias del symposium sobre la Presentación y el Control de las Diarreas en Cerdos.
 34. Mckinley, G.A., Fagerberg, D.J., Quales, C.L. and George, B.A.: Incidence of Salmonellae in fecal samples of production swine at slaughter plants in the United States in --- 1978. Applied and Environmental Microbiology, 40: 562-566 (1980).
 35. Mendoza Coto, R.: Inmunidad intestinal pasiva: Duración de

- la protección conferida por la administración oral de inmunoglobulinas séricas contra Salmonella choleraesuis. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot., UNAM. México, D.F., 1984.
36. Morilla G., A.: Mecanismos de resistencia del lechón. Porcicultura, 8: 58-64 (1983).
 37. Murata, H. and Namioka, S.: The duration of calostrai immunoglobulin uptake by the epithelium of small intestine of neonatal piglets. J. Comp. Path., 87: 431-439 (1977).
 38. Nader García, E. y López-Alvarez, J.: Resistencia bacteriana a los agentes quimioterapéuticos. Memorias del Symposium sobre la presentación y el Control de las Diarreas en Cerdos México, D.F., 1984, pág. 79-81.
 39. Nagy, L.K., Bhagal, B.S. and Mackensie, T.: Duration of antiadhesive and bactericidal activities of milk from vaccinated sows in E. coli 0 149 in the digestive tract of piglets during the nursing period. Res. Vet. Sci., 27:289-296 (1979).
 40. Nakoneczna, I. and Hsu, H.S.: The comparative histopathology of primary and secondary lesions in murine salmonellosis. Br. J. Exp. Path., 61: 76-84 (1980).
 41. Nakoneczna, I. and Hsu, H.S.: Histopathological study of protective immunity against murine salmonellosis induced by Killed vaccine. Infect. Immun., 39: 423-430 (1983).
 42. Pijoan A., C.: Salmonellosis. En Diagnóstico de las Enfermedades del Cerdo. Editores Ramiro R. Necochea y Carlos Pijoan A. México, D.F., 1982.
 43. Quiroz P., J., Olguín R., F. y Garza R., J.: Anticuerpos adquiridos pasivamente en relación con la mortalidad e incremento de peso del lechón. Vet. Méx., 6: 84-91 (1975).
 44. Ramírez N., R.: Diarreas del cerdo producidas por bacterias. Memorias del Symposium sobre la presentación y el Control de las Diarreas en Cerdos. México, D.F. 1984, pág. 24-28.
 45. Rivera H., J.: Problemas de enterobacterias en cerdos. Porcicultura, 5: 45-47 (1980).

46. Sánchez y García F., F.J.: Estudio bacteriológico en lechones de la granja Zapotitlán. Tesis de licenciatura. Fac. - de Med. Vet. y Zoot., UNAM. México, D.F., 1975.
47. Serrano Vega, L.: ¿por qué fallan los antibióticos?. Porcicultura, 9: 4-8 (1983).
48. Smith, R.A. and Bigley, N.J.: Detection of delayed hypersensitivity in mice with ribonucleic acid-protein fractions of Salmonella typhimurium. Infect. Immun., 6: 384-389- (1972).
49. Tato, P., Flisser, A., Gavilanes, M. and Molinari, J.L.: -- Immunogenic complexes obtained from Salmonella typhimurium and Salmonella typhi T y 2 by the bacterial acetone powder method. Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur) 130 A: 47-60 - - - (1979).
50. Uruchurtu M., A. y Doporto, J.M.: Mortalidad en lechones - (estudio recapitulativo). Vet. Méx., 6: 96-106 (1975).
51. Uruchurtu M., A., Méndez, D., Doporto, J.M., Romero, R.M., López A., J. y Sánchez, G.F.: Un estudio sobre la mortalidad de lechones en México. Vet. Méx., 7: 111-123 (1976).
52. Williams, C.A. and Chase, M.W.: Methods in immunology and-immunochemistry. 3th. ed. vol. 1. Academic Press, New - - York, 1971.