

99
Ley



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

**ESTUDIO SOBRE EL GRADO DE PROTECCION QUE
CONFIERE LA CEPA VACUNAL PAV-1, EN CERDOS
VACUNADOS BAJO CONDICIONES DE CAMPO**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

P R E S E N T A N

**ROBERTO OLIVARES RAMIREZ
FCO. JAVIER PADILLA AROCHI**

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO

1986





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 está 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.

INDICE

	PAG.
I.- <i>Introducción</i>	1
II.- <i>Objetivos</i>	11
III.- <i>Material y Métodos</i>	12
IV.- <i>Resultados</i>	14
V.- <i>Discusión</i>	23
VI.- <i>Conclusiones</i>	25
VII.- <i>Literatura Citada</i>	26

INTRODUCCION

La porcicultura es una de las actividades más dinámicas dentro del sub sector pecuario mexicano, con una tasa de crecimiento promedio de 7.5% en los últimos años (1).

Actualmente se dispone de una población porcina de 19'364,058 porcinos. La carne de porcino ha cobrado importancia dado que ofrece un alimento proteico y energético de elevada calidad nutritiva y de gran demanda por los habitantes de nuestro país (1).

La tasa de crecimiento de la porcicultura ha sido acorde al crecimiento demográfico del país. Se satisface la demanda nacional y permite además la exportación de excedentes eventuales a Japón y en cuanto a pie de cría a Centro y Sudamérica (1).

La producción estimada es de 1'485,881 toneladas de carne, lo cual representa 49,991 millones de pesos (año de 1984). Siendo la disponibilidad por persona de 19 Kg, esta cantidad la ubica como la carne de mayor consumo en el país, superando a la del ganado bovino que sólo ofrece 14 Kg por persona. Es probable que en años futuros se establecerá una mayor diferencia entre estos productos (1).

La población porcina tiene un promedio de incremento anual de 5.2% y una tasa de extracción (porcentaje de animales sacrificados comparados con una población base) de 102.8% (1).

La participación de la actividad porcícola en producto interno bruto (PIB) del sector ganadero es de 26.6%, además de que el empleo general del sector que corresponde a la porcicultura es de 37.6% (1).

El valor exacto de la porcicultura es difícil de calcular, sin embargo, tomando en cuenta la producción de carne, más el valor del pie de cría y la inversión fija por vientre, asciende a 400,000 millones de pesos, a esta cantidad podría agregársele el valor de las actividades conexas con la porcicultura, tales como : fábricas de alimento, rastros, frigoríficos, obradores, empacadoras, etc. (1,16).

Importancia del Cólera en la Porcicultura Nacional

El Cólera Porcino (CP), es actualmente la enfermedad más importante para la porcicultura nacional, no únicamente por las pérdidas que ocasiona por concepto de mortalidad, abortos, retraso del crecimiento, gastos médicos, etc., sino también porque es uno de los limitantes que está impidiendo el que la mayoría de los porcuicultores puedan exportar carne de puerco a países libres de esta enfermedad en donde los precios son muy aceptables (13).

Las pérdidas anuales calculadas por el cólera porcino son aproximadamente 1,200 millones de pesos (año de 1984). Estas estimaciones se basan en el cálculo de pérdidas por concepto de muerte, abortos y retraso del crecimiento de los animales, así como, las erogaciones por concepto de vacunaciones, gastos de asistencia médico veterinario, diagnóstico, etc. Por lo descrito anteriormente, constituye el cólera porcino sin lugar a dudas uno de los limitantes del desarrollo de la porcicultura nacional (13).

Basta señalar el dato de que diversos países interesados en la adquisición de carne de nuestro país condicionan el trato comercial a la ausencia de esta enfermedad; un ejemplo de lo anterior es el caso de Sonora, que gracias a no haber presentado evidencias de la enfermedad desde hace 5 años, tiene un contrato con Japón para exportar 21,000 toneladas de carne de cerdo, de las cuales sólo puede suministrar 9,000 toneladas (13).

El cólera porcino se encuentra difundido en todo el país con excepción de áreas bien definidas en las que los factores como el grado de tecnificación, los sistemas de comercialización, lejanía de explotaciones, han condicionado que se conserven libres de cólera porcino o con baja incidencia. Esto es válido para el norte de Sonora (Libre), parte de Sinaloa, Chihuahua y Nuevo León. Para el resto del país la enfermedad se manifiesta en forma cíclica a pesar de los programas preventivos de vacunación instituidos por los propios porcuicultores. Otros Estados poseen importantes recursos porcinos diseminados en áreas suburbanas y rurales, explotadas a nivel familiar sin ninguna tecnificación, ni programas sanitarios. Veracruz, Guerrero, Oaxaca y Chiapas, se encuentran en esta situación, y en ellas la enfermedad hace estragos año con año (13).

Características de Cólera Porcino

El Cólera Porcino es una enfermedad infecto contagiosa septicémica que produce morbilidad y mortalidad elevadas, afectando animales de todas las edades. Es producido por un virus ARN, de la familia Togaviridae y del género Pestivirus con un sólo serotipo y varias cepas con grados variables de patogenicidad (Ames, Minnessota, GPE, etc.). La enfermedad comparte antigenicidad con el virus de la Diarrea Viral Bovina (DVB), el cual es de la misma familia y género. El virus de Cólera Porcino se inactiva fácilmente por la luz solar, calor, ebullición, cresol al 5%, pero persiste en la carne de cerdo salada, ahumada y sobre todo en la carne congelada (2,11,15,17).

La transmisión se lleva a cabo por contacto directo, via oral o respiratoria, el virus se elimina por heces, saliva, secreciones, existe también la transmisión a través de vehículos y vectores. Es probable que el virus pase a través de la mucosa de la porción superior de los aparatos respiratorio y digestivo, posteriormente ocurre septicemia e invasión del endotelio vascular, multiplicándose el virus en las células del tejido reticulo endotelial.

El Cólera Porcino tiene dos formas de presentación :

- a. Cólera Porcino típico, que tiende a ser agudo y lo padecen animales no vacunados de cualquier edad.
- b. Cólera Porcino atípico, que se presenta en el área de engorda asociado a fallas vacunales y que tiende a la cronicidad (2).

Al comienzo de un brote, pueden morir algunas crías porcinas en forma fulminante sin presentar signo alguno, frecuente en casos agudos (Cólera Porcino típico en cerdos no vacunados). Los animales afectados se encuentran deprimidos, no comen y aparecen en actitud de abandono, procuran no moverse. Se observa también coloración púrpura de la piel del abdomen y pequeñas zonas de necrosis en los bordes de las orejas, cola y labios de la vulva. Es frecuente cierto grado de conjuntivitis, y en algunos cerdos los párpados se pegan, es común observar signos nerviosos, los animales caminan en círculo, hay incoordinación, temblores musculares, convulsiones (11).

La enfermedad experimental se caracteriza por elevación bifásica de la

temperatura al segundo y al sexto día de la inoculación, hay leucopenia intensa y anemia apreciable 24 horas después, estreñimiento al séptimo día seguido de diarrea, en ocasiones vómito, anorexia y finalmente la muerte (11).

Las lesiones adquieren máxima evidencia en el endotelio de los vasos sanguíneos, por la degeneración hidrópica y proliferación del endotelio vascular que da origen a oclusión de los vasos sanguíneos. Las lesiones pueden ser oscuras en los casos hiperagudos, pero en los casos agudos se producen hemorragias petequiales y equimóticas en muchos órganos. Los ganglios linfáticos están edematosos, congestionados y hemorrágicos. Lesiones macroscópicas fuertemente sugestivas, pero no patognómicas son: hemorragias en la laringe, riñones y vejiga, infartos en bazo y riñón, úlceras en botón cerca de la válvula ileocecal y una línea blanca ensanchada en las conjunciones costocondrales (2,11,15,17).

Inmunidad

El virus provoca inmunosupresión debido a que se multiplica principalmente en las células del tejido retículo endotelial. Esto se manifiesta en la sangre como una leucopenia, trombocitopenia y disminución del número de células de los órganos linfáticos como son la médula ósea, el timo, el bazo y ganglios linfáticos, entre otros. Estas alteraciones hacen que la respuesta inmune hacia el virus, y otros microorganismos disminuyan considerablemente, por lo que en el transcurso de la enfermedad con facilidad ocurren infecciones secundarias y septicemia. Este es el caso de la Salmonelosis que está frecuentemente asociada con el Cólera Porcino. Se ha observado que cuando ocurre la inmunosupresión en los animales de la granja, por diversas causas, como es el caso de las intoxicaciones por micotoxinas en el alimento, entonces se presenta exacerbación de la patogenicidad del virus de Cólera Porcino, tanto el de campo, como el de las cepas vacunales, llegando a provocar brotes de la enfermedad (18).

La inmunidad en contra del Cólera Porcino es un ejemplo clásico de los tres tipos de resistencia a la infección: resistencia natural, inmunidad adquirida pasiva e inmunidad adquirida activa (10,11,14).

La resistencia natural a la infección ocurre sobre una base genética en-

tre especies. Todas las demás especies animales tienen una resistencia natural al Cólera Porcino. Hay usualmente pocos cerdos en cada piara que son naturalmente resistentes a la infección, calculándose aproximadamente 5% (4,14).

La inmunidad adquirida pasiva, es obtenida por dos formas :

- a) Por aplicación de suero hiperinmune a cualquier edad (Artificial).
- b) Por ingestión de calostro (Natural).

La inmunidad adquirida activa, es obtenida por dos formas :

- a) Aplicación de una vacuna (Artificial).
- b) Exposición subletal a la infección (Natural) (4).

Control por vacunación

En la práctica, las estrategias en el control de Cólera Porcino son todava controversiales. Es probable que sea verdad que no haya un método universal de control adecuado el cual pueda ser disponible a una población con problemas de Cólera Porcino. En zonas con avanzada industria porcina, es necesario investigar los factores que influyen la persistencia del virus de Cólera Porcino hacia la infección persistente tales como : tamaño de la piara, movimiento de los cerdos, mercado, tipo de vacuna, etc. (14).

En el programa de control se deberán promulgar medidas regulatorias, las cuales tengan como finalidad evitar que el virus de Cólera Porcino se siga difundiendo por medio de vacunas que transmitan el virus o por otros medios (4).

El uso de vacunas que no difundan el virus podría ayudar en gran parte a reducir el mínimo de medidas regulatorias: como el sacrificio de animales afectados, que son costosas y por lo tanto difíciles de acatar por los porcicultores. Al usar vacunas que no difundan el virus, se establece una alternativa de sustitución del método de sacrificio, y por lo tanto, una posibilidad de disminuir los costos en programas de erradicación. No obstante, esta no sería la única forma de controlar la enfermedad, se podría combinar con una serie de recomendaciones, tales como :

- A los laboratorios productores de biológicos a realizar pruebas de inocuidad y de potencia.

- Evitar el uso de vacunas que difundan el virus a cerdos susceptibles, afección de hembras gestantes que están en contacto con vacunados (14).

Vacunas y Métodos de Vacunación

Dentro de las vacunas y métodos de vacunación se encuentran los siguientes :

Aplicación simultánea de suero y virus.

La primer forma de protección contra Cólera Porcino utilizada consistió en la aplicación de suero hiperinmune. Posteriormente se utilizó la aplicación simultánea de suero hiperinmune con virus virulento; se encontró que es este método confiere inmunidad estable y duradera, sin embargo, tiene la desventaja que difunde el virus virulento, razón por la cual este tipo de inmunización fue el primero en ser descontinuado (2,4,5,8,11).

La inmunidad se obtiene con la aplicación de 2 a 3 ml de virus virulento con 20 ml de suero hiperinmune, en lechones y 75 ml en cerdos de 80 o más Kg (9).

Vacunas de virus inactivado.

Este tipo de vacunas tiene la ventaja de que no difunde el virus, la vacuna cristal violeta, esta elaborada con virus inactivado y para su elaboración se utiliza sangre desfibrinada a la cual se le agrega cristal violeta y glicerina. Proporciona una inmunidad de 10 meses y no trasmite la enfermedad, se ha utilizado intradérmica (1.5 ml) con resultados malos y se obtiene una mejor respuesta por vía subcutánea. La respuesta de anticuerpos con la vacuna de cristal violeta, tarda aproximadamente 3 a 10 semanas, en cerdos de 4 a 6 meses de edad. Una revacunación eleva los títulos de anticuerpos, mantiéndolos por más de un año. En un estudio se encontró que cerdos de 4 a 6 semanas de edad vacunados con vacuna de cristal violeta, tuvieron un alto nivel de anticuerpos 3 a 4 semanas postvacunación, pero sólo hubo protección del 67% cuando se desafiaron. En la práctica se encuentran lotes de vacuna mal inactivados que pueden ocasionar brotes de Cólera Porcino. Se menciona que estas vacunas son inefectivas si se aplican con suero, sin embargo, esto no ha sido plenamente demostrado. Además es poco efectiva si se aplica a lechones de madres inmunes, actualmente, tanto la aplicación simultánea de suero y virus, así como, vacunas inactivadas de cristal violeta, ya no son uti-

lizadas desde hace algunos años en países productores de cerdos (5,9,11,23).

Vacunas vivas atenuadas

De este tipo existen vacunas adaptadas en conejos y vacunas con pases alternados en conejos y cerdos.

Las vacunas atenuadas incluyen : una tisular, una en tejidos y otra lapinizada (alto y bajo pasaje).

a. Tisular. Preparada por tratamiento con eucaliptol de tejidos infectados, la cual produce una inmunidad lenta en aproximadamente 3 semanas (2,5,11,14).

b. Cultivo de Tejidos. Se prepara por pases seriados en tejidos tales como : células de riñón de cerdo, células de riñón de bovino, leucocitos de cerdo, etc.. Y no se recomienda usarla simultáneamente con suero; produce inmunidad satisfactoria (4,5).

c. Vacunas Lapinizadas. Estas se producen por pases celulares en conejos o por pases alternados en porcinos y conejos. Estas vacunas tienen la ventaja de producir inmunidad en pocos días, no se administran con suero y por lo tanto, pueden utilizarse en el curso de un brote. Algunas pueden producir inmunidad por 2 años (4,5,11,14,18).

Un inconveniente de este tipo de vacunas, es que llegan a producir reacción postvacunales, y por lo tanto, difusión del virus, el cual puede revertir la virulencia después de varios pases. Se reporta que la vacuna elaborada con la cepa ASC lapinizada, produce pocas reacciones postvacunales y elevada inmunidad (6,12,22).

La mayor publicidad de vacunas de este tipo esta dada para la cepa china de virus lapinizado, atenuado por un número desconocido de pases. No es patogénica en cerdos jóvenes y produce fuerte inmunidad, se reporta que funciona bien, aún cuando se utiliza con suero y no tiene efectos indeseables en cerdas gestantes. El virus no obstante, puede ser diseminado hasta 12 días postvacunación (6,12).

Se reportan vacunas de cultivos celulares de riñón de cerdo atenuado a los 50 - 75 pases (25).

La cepa GPE, la cual fue desarrollada de la cepa ALD, ha sido aplicada ampliamente para el control de Cólera Porcino en Japón (14).

En México ha sido estudiada también la cepa PAV - 250, obtenida en la Universidad de Cornell, mediante 250 pases en cultivos celulares.

Se ha informado que tiene un alto grado de protección y no difunde de cerdos vacunados a cerdos susceptibles. Esta cepa se obtuvo de la cepa A de Cólera Porcino. En los Estados Unidos se usó esta cepa junto con suero, en su pase número 75 posteriormente fue usada en su pase 125 sin suero. Finalmente se reporta que en su pase 250 no se difundía (3,8,23).

Esto es importante si se piensa que puede ser usada en una campaña de erradicación (4).

Vacunas combinadas con el virus de Diarrea Viral Bovina (DVB).

Desde que se encontró relación antigénica entre el Cólera Porcino y DVB, una vacuna heterotípica preparada de virus de DVB fue propuesta para el uso de control de Cólera Porcino. La protección proporcionada por la vacunación con virus de DVB, no obstante, fue incierta (14,25).

El mecanismo de protección de la vacuna no se debe a la inducción de anticuerpos específicos contra Cólera Porcino, sino a la sensibilización de células productoras de anticuerpos y que al ser expuestas con virus de Cólera Porcino producen anticuerpos contra este último más rápido (3,24).

Sin embargo, no todas las cepas de DVB protegen contra el Cólera Porcino, por ejemplo, la cepa Oregon C24B, ofrece mala protección contra algunas cepas de Cólera Porcino (3).

En pruebas realizadas por Baker et al. (1969) se encontró que la cepa DVB-New York-1, protegió contra gran parte de cepas virulentas de Cólera Porcino (3,9).

Las pruebas realizadas en México con la vacuna elaborada con virus de DVB, cepa Andy-1, y con la cepa vacunal PAV-250 de Cólera Porcino, confirmaron los estudios realizados en E.U., y demostraron además, que la vacunación con la combinación de las cepas DVB-Andy-1 y PAV-250 confirió excelente protección (100%) contra Cólera Porcino.

La vacuna de DVB-Andy-1 sólo protegió el 94 % de los animales en contra de la cepa virulenta Cornell A de Cólera Porcino, considerada la cepa original de Cólera Porcino y confirió protección del 83% contra la cepa Ames. Esta cepa es considerada por el Animal Disease Laboratory, como un virus de referencia para probar la eficiencia de vacunas de Cólera Porcino. Una vacuna recomendable para el control de Cólera Porcino podría ser la combinación de las cepas DVB-Andy-1 y CP-PAV-250. Estas vacunas no se difunden de cerdos vacunados a susceptibles, ni de cerdos vacunados a terneras. Son inéscuas, y combinadas estimulan la protección completa (100%) contra la cepa de exposición Ames (3,4,23).

En México existe un promedio de 15 vacunas comerciales contra la enfermedad de Cólera Porcino, las cuales están elaboradas con virus vivo modificado. Existen vacunas producidas con cepa China (lapinizada), cepa Minessota, PAV-250, GPE (Japonesa), PAV-1 (13).

A pesar de que estas cepas confieren adecuada inmunidad en condiciones de laboratorio, es posible observar con frecuencia problemas de Cólera Porcino en explotaciones en las que se ha llevado a cabo la vacunación; Esto indica que existen problemas de fallas vacunales, a nivel de campo.

Los brotes de Cólera Porcino postvacunal podrían ser debido a varias razones; dentro de éstas se encuentra el que el virus en la granja pueda ser el de campo, que después de un brote severo, se ha establecido en los animales convirtiéndose en poco patógeno y de vez en cuando se reactiva. También se ha sospechado que los virus atenuados vacunales pudieran inmunosuprimir a los animales incrementándose la morbilidad; Esto ha sugerido que ocurre, ya que existen cepas vacunales que provocan en los animales una falta de apetito, aumento la temperatura, problemas respiratorios, decaimiento, en ocasiones problemas digestivos o hasta brotes de Cólera. Esto

último podría ser debido a un aumento de la patogenicidad del virus atenuado o exacerbación del virus de campo.

Es probable que ocurran los brotes postvacunales, cuando se vacunan a los animales que se encuentran inmunosuprimidos por Salmonelosis, Erisipela, intoxicaciones por micotoxinas, principalmente aflatoxinas, tensión por manejo, destete y otras innumerables causas que hacen que bajen la resistencia del animal (18).

Debido a las repercusiones económicas que tiene esta enfermedad en nuestro país, se ha hecho necesario tener un buen método de prevención y control en que la vacunación ocupa un lugar importante. El tipo de vacuna ideal para esta finalidad es aquella que confiera un alto grado de protección y no difunda el virus a cerdos susceptibles.

Actualmente existen en México algunos problemas con respecto a la utilización de vacunas contra Cólera Porcino, como son la difusión del virus, protección insatisfactoria, aumento de temperatura, anorexia, etc., lo cual provoca que la enfermedad permanezca en forma latente en las explotaciones porcícolas. Este tipo de problemas obliga, por lo tanto, a realizar pruebas para valorar la eficacia de una cepa vacunal. Este fue precisamente el objetivo del presente trabajo, en el cual se utilizó la cepa vacunal PAV-1 que es elaborada en cultivos celulares.

último podría ser debido a un aumento de la patogenicidad del virus atenuado o exacerbación del virus de campo.

Es probable que ocurran los brotes postvacunales, cuando se vacunan a los animales que se encuentran inmunosuprimidos por Salmonelosis, Erisipela, intoxicaciones por micotoxinas, principalmente aflatoxinas, tensión por manejo, destete y otras innumerables causas que hacen que bajen la resistencia del animal (18).

Debido a las repercusiones económicas que tiene esta enfermedad en nuestro país, se ha hecho necesario tener un buen método de prevención y control en que la vacunación ocupa un lugar importante. El tipo de vacuna ideal para esta finalidad es aquella que confiera un alto grado de protección y no difunda el virus a cerdos susceptibles.

Actualmente existen en México algunos problemas con respecto a la utilización de vacunas contra Cólera Porcino, como son la difusión del virus, protección insatisfactoria, aumento de temperatura, anorexia, etc., lo cual provoca que la enfermedad permanezca en forma latente en las explotaciones porcinas. Este tipo de problemas obliga, por lo tanto, a realizar pruebas para valorar la eficacia de una cepa vacunal. Este fue precisamente el objetivo del presente trabajo, en el cual se utilizó la cepa vacunal PAV-1 que es elaborada en cultivos celulares.

OBJETIVO

- *Determinar el grado de protección conferido por la cepa vacunal PAV-1, en cerdos vacunados en condiciones de campo.*

MATERIAL Y METODOS

Localización.- El estudio se llevó a cabo en las instalaciones del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias (S.A.R.H.), Palo Alto, km 15.5 carretera México-Toluca.

Se utilizaron las instalaciones del departamento de Inmunología (laboratorio, sala de necropsias, corrales).

Animales.- Los animales utilizados fueron porcinos híbridos de las diferentes razas existentes en nuestro país, los cuales fueron proporcionados por diferentes granjas porcinas comerciales, localizadas en el Estado de México.

Los cerdos utilizados en este estudio contaban con una edad de 40 a 60 días y con un peso que oscilaba entre los 12 y 18 kg. Los animales fueron vacunados con la cepa PAV-1, en condiciones de campo, por los veterinarios en cargados.

Se formaron 3 grupos con 9 lotes de animales vacunados, con diferentes lotes de vacuna y 3 grupos de animales testigo. La distribución de los grupos se encuentra en el cuadro 1.

Se utilizó un total de 62 animales, los cuales fueron aretados para su identificación. Como animales vacunados se utilizaron 44 lechones, los cuales fueron vacunados 3 semanas antes de la prueba, con la cepa vacunal PAV-1, y que por lo tanto, estos lechones debían tener un nivel adecuado y satisfactorio de protección contra el Cólera Porcino (CP) (Correa y Baker, 1964). Como grupos testigo, se usaron 18 cerdos; que fueron designados de esta manera debido a que eran animales de granjas comerciales, en las cuales normalmente se vacuna u estos animales se dejaron sin vacunar.

Los lechones vacunados fueron separados en grupos de 5 animales (cada grupo pertenecía a una granja distinta) y se designaron como : A,B,C,D,E,F,G,H,I; cada lote fue colocado en su respectivo corral, el cual contaba con cama de paja, comedero y bebedero, proporcionándoles alimento y agua a libre acceso. Los animales testigo también fueron colocados en su respectivo corral.

Durante el desarrollo de los tres experimentos del presente estudio, se siguieron los lineamientos que se describen a continuación :

Desafío.- Cada uno de los experimentos tuvo una duración de 21 días; al inicio del experimento se designó como el día cero, es decir, este fue el día en que se hizo el desafío de todos los grupos de cerdos, incluyendo al grupo control.

La cepa virulenta utilizada para el desafío en el experimento 1 y 2, fue la cepa Ames, distribuida internacionalmente por el National Disease Laboratory de Ames, Iowa, como virus de referencia para probar la eficacia de las vacunas. Para el 3er. experimento, se utilizó la cepa virulenta Lederle. El título aproximado de las cepas fue de 10^6 partículas virales por ml y se inocularon 2 ml por vía intramuscular a cada animal.

Diagnóstico de Cólera.- El diagnóstico se llevó a cabo a partir de los siguientes parámetros: Signos clínicos, concentración de leucocitos circulantes, lesiones a la necropsia y prueba de anticuerpos fluorescentes. A partir del día del desafío se hizo la observación clínica de los animales, incluyendo el registro de la temperatura rectal. Estos parámetros se tomaron diariamente hasta el fin de cada experimento, es decir durante 21 días. Se sangraron los animales del grupo control el día cero antes del desafío y posteriormente cada tercer día hasta el día 21; las muestras fueron utilizadas para la realización de cuentas leucocitarias, por los métodos convencionales. A los cerdos muertos se les realizó la necropsia, para buscar las lesiones características de CP, así como, la toma de muestras de tonsilas para realizar la prueba de inmunofluorescencia. La prueba se basa en el principio de que el anticuerpo marcado con un colorante fluorescente puede ser observado con un microscopio de luz ultravioleta una vez unido con el antígeno. Se hicieron cortes de 6 micras de las tonsilas, por medio de un criostato (Ames), los cortes fueron puestos sobre un portaobjetos y fijados con acetona por 10 minutos; se lavan en solución salina amortiguada, se añade un conjugado de anticuerpos anticólera porcino, con isotiocianato de fluoresceína y se incuba a 37°C por una hora en una cámara húmeda. Después el exceso de conjugado se elimina por lavados con solución salina amortiguada. La muestra se examina en un microscopio de luz ultravioleta, observándose los resultados.

RESULTADOS

Los resultados en las pruebas de protección (cuadro 2) mostraron que hubo mortalidad en 4 de los 9 lotes experimentales, es decir, de los cerdos vacunados con la cepa PAV-1 y que posteriormente fueron desafiados, de los cuales sólo en dos de ellos el porcentaje de mortalidad superó el 20 %, lo que nos indica que hubo una falla vacunal.

En los animales testigo era de esperarse una mortalidad del 100 %, tomando en cuenta que estos animales son cerdos sin vacunar, que también, fueron inoculados con el virus patógeno. Sin embargo, sólo en el experimento 2 y 3 hubo 100 % de mortalidad, observándose sólo un 44 % en el primer experimento (cuadro 2).

Con respecto a los signos clínicos y las lesiones a la necropsia, fueron las características de Cólera Porcino, así como, la prueba de inmunofluorescencia que resultó positiva en todos los animales (cuadro 3).

Hubo un aumento de la temperatura rectal en los animales de los lotes experimentales, entre el segundo y tercer día, llegando hasta 41.5°C (figuras 1, 2, 3). En los animales testigo se observó un aumento de la temperatura rectal a partir del segundo día postinoculación, alcanzando hasta 41.5°C, disminuyendo entre el sexto y décimo día postinoculación (figura 4).

Con relación a los leucocitos circulantes, se encontró que en los tres experimentos hubo una leucopenia marcada llegando hasta 6000-7000 leucocitos por mm^3 incrementándose la concentración posteriormente (figura 5).

CUADRO 1

DISTRIBUCION DE LOS TRATAMIENTOS

Número de experimento	Lote de vacuna	Número de animales
1	A	5
	B	4
	testigos	7
2	C	5
	D	5
	E	5
	testigos	6
3	F	5
	G	5
	H	5
	I	5
	testigos	5
		Total <u>62</u> animales

CUADRO 2

Resultado de las pruebas de protección de cerdos vacunados y
desafiados con el virus de Cólera Porcino

Cerdos vacunados o no con diferentes lotes de vacuna	Mortalidad (%) muertos/total
Lote A (a)	5/5 = 100 (c)
Lote B	0/4 = 0
Testigos (b)	3/7 = 44
Lote C	0/5 = 0
Lote D	1/5 = 20
Lote E	0/5 = 0
Testigos	6/6 = 100
Lote F	1/5 = 20
Lote G	2/5 = 40
Lote H	0/5 = 0
Lote I	0/5 = 0
Testigos	5/5 = 100

- a) Los cerdos fueron vacunados con la cepa PAV-1 en las granjas y 3 semanas después fueron desafiados con virus patógeno de Cólera Porcino (Lotes A - I).
- b) Son cerdos no vacunados que se obtuvieron de granjas tienen programas de vacunación (testigos)
- c) El diagnóstico de los animales que murieron fue de Cólera Porcino.

CUADRO 2

Resultado de las pruebas de protección de cerdos vacunados y
desafiados con el virus de Cólera Porcino

Cerdos vacunados o no con diferentes lotes de vacuna	Mortalidad (%) muertos/total
Lote A (a)	5/5 = 100 (c)
Lote B	0/4 = 0
Testigos (b)	3/7 = 44
Lote C	0/5 = 0
Lote D	1/5 = 20
Lote E	0/5 = 0
Testigos	6/6 = 100
Lote F	1/5 = 20
Lote G	2/5 = 40
Lote H	0/5 = 0
Lote I	0/5 = 0
Testigos	5/5 = 100

- a) Los cerdos fueron vacunados con la cepa PAV-1 en las granjas y 3 semanas después fueron desafiados con virus patógeno de Cólera Porcino (lotes A - I).
- b) Son cerdos no vacunados que se obtuvieron de granjas tienen programas de vacunación (testigos)
- c) El diagnóstico de los animales que murieron fue de Cólera Porcino.

CUADRO 3

Signos clínicos, lesiones a la necropsia y resultados de la inmunofluorescencia de los cerdos testigo que murieron de Cólera Porcino.

Periodo de incubación -	5 a 15 días
Signos clínicos -	Temperatura alta, conjuntivitis, amontonamiento, anorexia, diarrea pastosa al inicio y líquida color mostaza al final, en ocasiones vómito, cuadro nervioso con temblores, incoordinación, convulsiones, postración y muerte.
Lesiones a la necropsia -	Áreas cianóticas en hocico, orejas y abdomen, ganglios linfáticos hemorrágicos y congestionados, áreas neumónicas focales en pulmón, úlceras en tonsilas, petequias en la superficie renal, infartos en bazo, úlceras botonosas en válvula ileocecal, petequias en vejiga.
Inmunofluorescencia -	Con el conjugado antivirius de Cólera Porcino se observaron células fluorescentes en preparaciones a partir de tonsilas de los animales que murieron.

Fig. 1

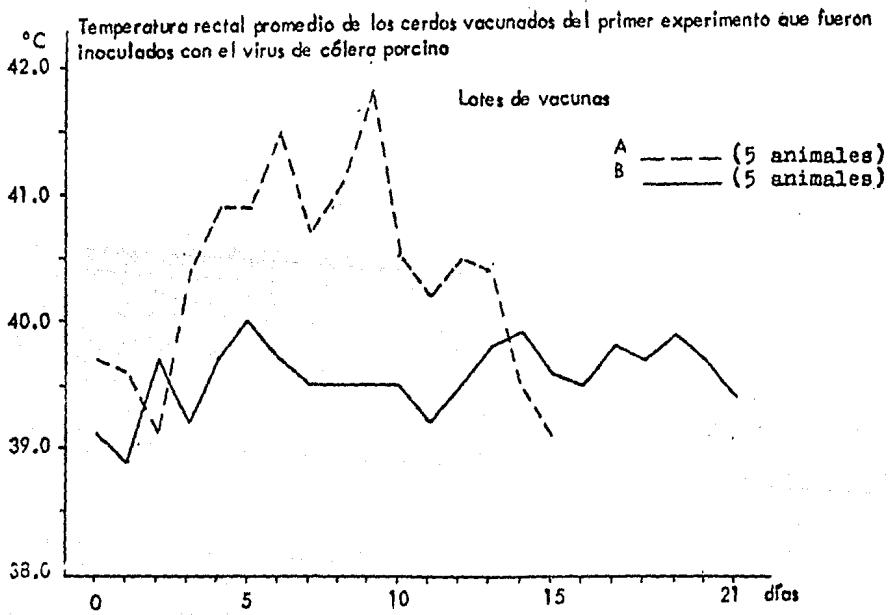


Fig. 2

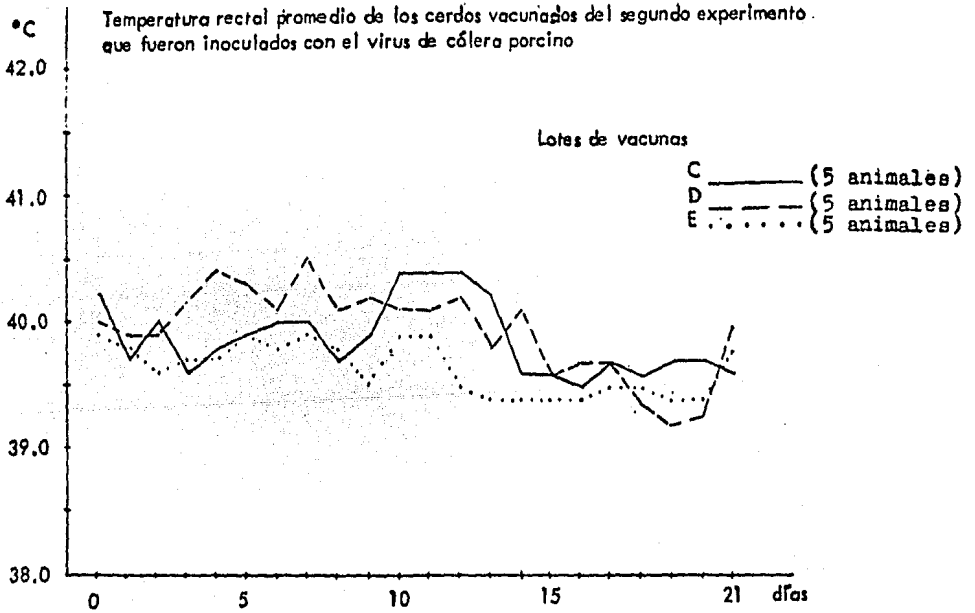


Fig. 3

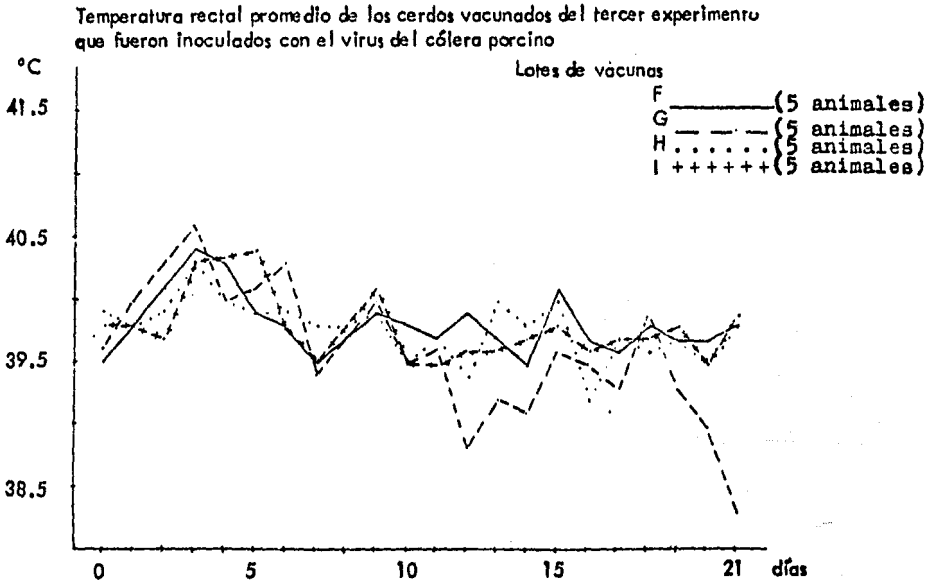


Fig. 4

Temperatura rectal promedio de los cerdos de los grupos testigo que fueron inoculados con el virus de cólera porcino

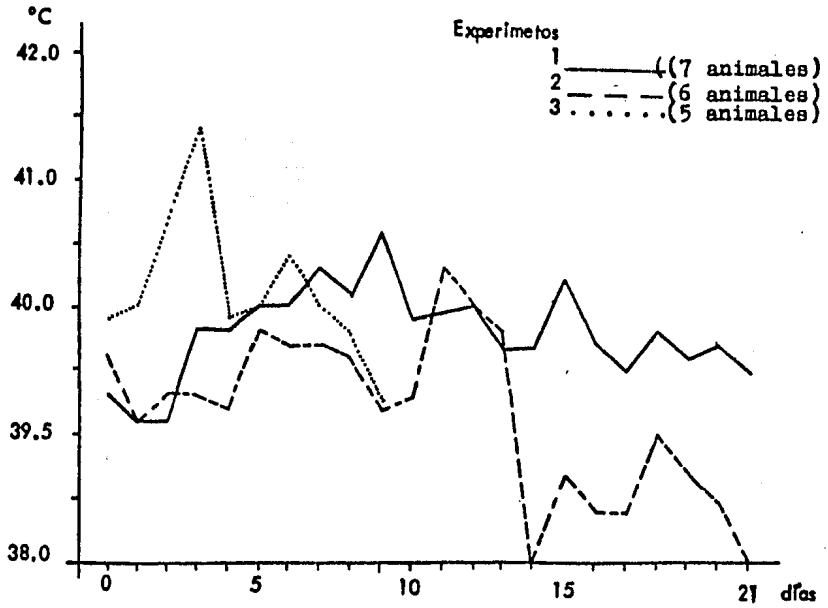
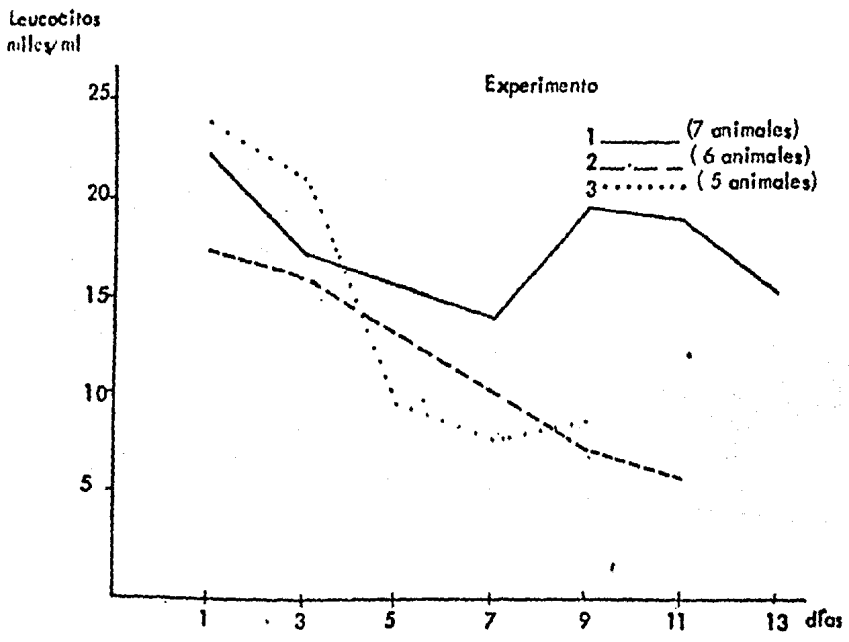


Fig. 5

Promedio de la concentración de leucocitos circulantes de los cerdos de los grupos testigo inoculados con virus del cólera porcino



DISCUSION

De los 9 lotes de vacunas probadas, en 7, los animales vacunados estuvieron protegidos, o sea que sobrevivieron 80% o más de los animales. Y si observamos la curva de temperatura rectal de estos 7 grupos notaremos que ésta se mantuvo en un rango de 39.5°C a 40.5°C. De los 2 lotes restantes los animales inmunizados no resistieron al desafío (lote A y G).

Por lo tanto relacionando los datos anteriores, de mortalidad y temperatura rectal, con los de los lotes A y G; en los cuales la temperatura se elevó hasta 42 °C, con mortalidad de 100% en el lote A (figura 1, cuadro 2), y en el lote G temperatura de 40.7 °C, con mortalidad de 40% (figura 2, cuadro 2). Los datos de estos lotes ya nos están indicando que hubo una falla vacunal, si tomamos en cuenta que una vacuna debe proteger mínimamente en un 80% a los animales (4,5,6,7). Además aparentemente existe una relación directamente proporcional entre temperatura y mortalidad.

Ahora bien, checando los resultados de los grupos testigo, observamos que: el lote de animales del experimento 1, sólo hubo 44% de mortalidad, cuando se esperaba que fuera de 100%, así mismo, su curva de temperatura rectal se mantuvo en los 40 °C aproximadamente y la leucopenia no fue tan marcada (figuras 4 y 5). Lo que nos indica que probablemente estos animales poseían niveles bajos de anticuerpos maternos (8).

La leucopenia presentada en los grupos testigo del experimento 2 y 3 indican o confirman que el virus del CP causa inmunosupresión y por lo tanto, es posible que una vacuna llegue a producir reacciones postvacunales y aún la enfermedad, lo que indica que de alguna manera ocurren fallas vacunales, en condiciones de campo (20). Esto probablemente puede ser debido a elaboración deficiente de la vacuna, deficiencias en la red fría o sea, desde que sale del laboratorio productor hasta que llega a la farmacia veterinaria, a mal manejo de la vacuna una vez que sale de la farmacia y se aplica a los animales, a que los cerdos se encontraban estresados o inmunosuprimidos al momento de la vacunación. Quizá las fallas vacunales no se deben a una sola causa, sino probablemente sean varias (7,19,20,21).

Cuando se desafiaron los animales vacunados, y que no murieron, se observó en algunos grupos que la temperatura aumentó y que tuvieron diarrea acuosa lo que indica que el virus de CP pudo multiplicarse en estos animales. Estos fueron los únicos signos clínicos observados en algunos animales inmunizados por lo que se considera que la vacuna protege a los animales.

La importancia de las fallas vacunales a nivel de campo trae como consecuencia una serie de problemas como son, el hecho de que el virus permanezca siempre en forma latente en las granjas porcícolas, siendo de esta manera imposible tratar de erradicar la enfermedad en las explotaciones, lo cual va a repercutir en un esfuerzo inútil de tipo económico para acabar con la enfermedad. Es por eso que se hace hincapié en tener una correcta aplicación y estado físico del cerdo.

CONCLUSIONES

Por lo descrito anteriormente y de acuerdo a los resultados obtenidos podemos concluir, que el uso de un inmunógeno como instrumento para atacar una enfermedad no debe ser la única herramienta a usar, ya que existen una serie de factores tales como : potencia del lote, mantenimiento de la cadena fría, inactivación por mal manejo, o bienestar físico del cerdo, que influyen en el éxito de un adecuado nivel de protección de un inmunógeno, es decir, debe mos proporcionar a los animales todos aquellos elementos que finalmente den como resultado un equilibrio entre éstos y el medio ambiente que les rodea.

LITERATURA CITADA

1. Aguilar, E. V. : Diagnóstico de la producción, transformación y comercialización de la ganadería de los porcinos en México. S.A.R.H. Dirección General de Desarrollo Agro Industrial, México 1979.
- 2.- Blood, D. C., Henderson, J. A. : Medicina Veterinaria, 5a. ed., Ed. Interamericana, México D. F., (1982).
3. Correa, P. G. Baker, J. A., Sheffy, B. F., Ochoa, M. C., Mancisidor, N. A.: Una nueva vacuna mejorada para controlar el cólera del cerdo. Tec. Pec., Méx., 29 : 34-40 (1975).
4. Correa, P. G. : Enfermedades virales de los animales domésticos. Vol. 1, 3a. ed., Ed. UTEHA, México, 7-28, 1981.
5. Correa, P. G., Baker, J. A. : Potencia de sueros y vacunas comerciales contra el cólera porcino. Tec. Pec. Méx., 21: 104-110 (1984).
6. Correa, P. G. : Importancia de la inocuidad y potencia de los productos contra el cólera porcino. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México, 139-141 (1984).
7. Correa, P. G.: Experiencias con los biológicos contra el cólera porcino. Avances en enfermedades del cerdo. Ediciones de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, A. C., 117-124 (1985).
8. Corthier, G. : Swine Fever: Influence of passive immunity on pig immune response following vaccination with a live virus vaccine. Ann Rech. Vétér., 7: 361-372 (1976).
9. Corthier, G., Labadie, J. P., Petit, E. : Réponse immunitaire humorale et cellulaire du porc, consecutive a la vaccination ou l'infection sub-clinique par le virus de la peste porcine classique. Bull. Acad. Vét. de France, 50: 425-433 (1977).
10. Corthier, G. : Cellular and humoral immune response in pigs given vaccinal and chronic hog cholera viruses. Am. J. Vet. Res. 39 : 1843-1848 (1978).

11. Dunne, H. W. : Diseases of swine. 3a. ed., Iowa, 177-226 (1970).
12. Desmecht, M., Charlier, G., Van, L. H., Leunen, J. : Controle d'activite du vaccine lapinisé de la peste porcine. Ann. Med. Vet., 121 : 567-572 (1977).
13. Dirección General de Sanidad Animal : Medidas preventivas contra P.P.A.y Cólera Porcino. Manual de normas y procedimientos, 1983.
14. Gibbs, E. P. J. : Virus diseases of food animals, Vol 11, Academic Press, 628-650 (1981).
15. Huytra, F. U., Manninger, J. M. : Patología y Terapéutica de los animales domésticos, 3a. ed., Ed. Labor, Méx., 179-201 (1959).
16. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Anuario Estadístico de los Estados Unidos Mexicanos, 1984.
17. Jubb, K. V., Kennedy, P. C. : Patología de los animales domésticos. Tomo II, Ed. Labor, México, 784-794 (1983).
18. Morilla, A. G. : Aspectos inmunológicos del cólera porcino. Avances en Enfermedades del Cerdo. Ediciones de la asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, A. C., 71-73 (1985).
19. Morilla, A. G. : Inmunosupresión de los cerdos causada por el virus del cólera porcino. Avances en Enfermedades del Cerdo. Ediciones de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, A. C., 73-75 (1985).
20. Morilla, A. G. : Estudio sobre el comportamiento del cólera porcino en condiciones de campo. Avances en Enfermedades del Cerdo. Ediciones de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, A. C., 125-128 (1985).
21. Maqueda, J. J. : Algunos errores frecuentes en la vacunación contra el cólera porcino y calendarios de vacunación sugeridos para la República Mexicana, Avances en Enfermedades del Cerdo. Ediciones de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, A. C., 105-114 (1985).

22. Mierzejewska, W., Tereszczuk, Corthier, G., Aynaud, J. M. : Peste Porcine Classique; Influence des Anticorps passifs D'origine calostrale sur la response Immunitaire porcelet consecutive a la vaccination Avec L'Adid de la Souche Lapinisse Dite "Chincise". Ann. Rech. Vét., § (3): 227-240 (1977).
23. Rosas, N. C., Sierra, L. M., Jacobo, F. R., Rodríguez, B. S., Correa, P. G. : : Estudio sobre la difusión, título viral, inocuidad, antigenicidad y protección inducida por la vacuna PAV-250 contra el cólera porcino. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México. 37-39 (1982).
24. Sreeraman, K. P., Rama, R. P., Jandhana, K. P. : Cytochemical studies on the peripheral blood leucocytes of swine, before and after hoy cholera va ccination. Indian. Vet. J. 56 : 825-830 (1979).
25. Yasuo, K. Shun-Ioki, O., Mizuguo, S. S. : Differences in pathogenicity and antigenicity among hog cholera virus strains. Nat. Ins. Anim., 17 : 133-140 (1977).