

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



ENCUESTA SEROLOGICA PARA LA DETERMINACION DE ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS DE GASTROENTERITIS TRANSMISIBLE EN LOS CERDOS.

T E S I S

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

ASESOR: M. V. Z. MSC. FERNANDO OLGUIN ROMERO

MEXICO, D. F.

1977



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**ENCUESTA SEROLÓGICA PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS DE GASTROENTERITIS TRANSMISIBLE EN LOS CERDOS.**

**TESIS PROFESIONAL**

**ROMULO AMARO GUTIERREZ**

A la venerada memoria de mi Madre  
Profa. Agueda Gutiérrez Espinosa  
y de mi Hermano C.D. Wenceslao -  
Amaro Gutiérrez.

A mi Padre: Sr. Reyes Amaro González.

A mis hermanos:

Gilberto,  
Rodolfo,  
Artemio,  
Ana María.

FRATERNALMENTE.

A mi esposa María Lilia  
y mi hija Verónica Xochiquetzal  
con cariño.

**Con especial agradecimiento a:**

**QFB Beatriz B. de Unzueta.**

**MVZ. Fernando Olguín Romero,  
Asesor de este trabajo.**

Este trabajo se llevó a cabo en el Departamento de Inmunología y Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo el asesoramiento del MVZ. Fernando Olguín-Romero.

# I N D I C E

	C A P I T U L O	P A G .
I	INTRODUCCION	1
II	MATERIAL Y METODOS	3
III	RESULTADOS	6
IV	DISCUSION	11
V	CONCLUSIONES	17
VI	BIBLIOGRAFIA	18

## I. - INTRODUCCION

La presencia de la enfermedad denominada Gastroenteritis Transmisible de los cerdos se conoce en el territorio nacional desde el año de 1965 en su forma clínica (15); siendo aislado el virus en el año de 1969 (14); y a partir de entonces han aparecido publicaciones sobre diversas manifestaciones de la enfermedad y varios clínicos de campo han denunciado brotes severos de la misma (7, 4, 11 y 15), sin embargo no se tienen noticias a la fecha de trabajos que indiquen cuál es la extensión de la infección en la población porcina de México.

La enfermedad se manifiesta principalmente con una gran mortalidad de lechones menores de dos semanas de edad y se sabe también que existen mecanismos que crean cerdos portadores durante tiempo considerable (1, 13); por lo que un trabajo que señale mediante pruebas serológicas la extensión de la actividad del virus sería de gran utilidad para conocer en qué regiones del país se ha presentado la enfermedad, en qué magnitud y por lo tanto inferir de esto las precauciones para evitar una mayor difusión de la misma.

Romano y cols. (16) pusieron de manifiesto la relación antígenica entre el virus de gastroenteritis transmisible de los cerdos con el de la bronquitis infecciosa de las aves, empleando, entre otras, la técnica de precipitación en agar, lo que marcó la posi

bilidad de detectar anticuerpos contra gastroenteritis transmisible de los cerdos utilizando la misma técnica.

El propósito de este trabajo es, mediante la técnica de precipitación en agar poner de manifiesto los anticuerpos que como resultado de la infección con el virus de gastroenteritis transmisible pudieran presentarse en muestras representativas de sueros de cerdos de las principales regiones productoras de la República Mexicana.

## II. - MATERIAL Y METODOS

### a) Materiales

Quinientas muestras de suero de cerdos provenientes de: Sur de Sonora; Cd. Guzmán, Jal.; Irapuato, Gto.; La Piedad, - Mich.; Toluca, Edo. de Méx.; y Distrito Federal que fueron sacrificados en los rastros de Xalostoc, Los Reyes y Frigoríficos ABC, todos de la periferia del Distrito Federal.

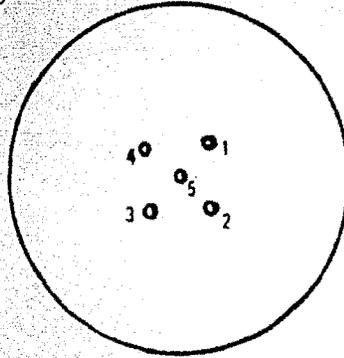
Suero hiperinmune contra el virus de gastroenteritis transmisible de los cerdos (GET), preparado en conejo, en el Laboratorio de Inmunología del Departamento de Virología de la F.M.V.Z.

Sueros porcinos positivos tomados de cerdos convalescentes de la enfermedad de gastroenteritis transmisible, provenientes de la Granja Experimental Porcina de la F.M.V.Z. y sueros también positivos de porcinos, proporcionados por el Departamento de Virología e Inmunología de la F.M.V.Z.

Virus de Gastroenteritis transmisible de los cerdos (GET), cepa F.M.V.Z./69 (14); proporcionado en forma de suspensión de intestino de cerdo al 10% en solución de Hanks, filtrada y conservada en congelación A - 40°C.

## b) Métodos

Se empleó la técnica de Ouchterlony (5) para precipitación en Agar, empleando caja de Petri de 5 cm. de diámetro. Las cajas se lavaron y esterilizaron a 120 °C durante 15 minutos a 110 libras de presión, se llenaron con aproximadamente 5 ml. de Agar Noble al 1%. Al agar se le adicionó 1% de cloruro de sodio y timerosal suficiente para una concentración de 1:10 000. Una vez que solidificó el Agar se hicieron las perforaciones de 2 mm. de diámetro y separados 5 mm. según el siguiente diseño



Los pozos 1, 2, 3 y 4 se llenaron con las diluciones de los sueros problema. El pozo número 5 se llenó con el antígeno (Virus GET).

Cada caja con el diseño se usó para una muestra de suero y se trabajaron lotes de 25 sueros diariamente, el resto de los sueros se mantuvo en congelación.

Con cada lote de trabajo se estableció un control positivo con -

los sueros ya señalados y sus diluciones. El antígeno se diluyó hasta encontrar la dilución que proporcionó la zona de equivalencia para que se llevara a cabo la precipitación.

## III. - R E S U L T A D O S

## "Estandarización de la Prueba de Precipitación en Agar "

Para poder encontrar la dilución óptima tanto del suero positivo conocido como del virus GET, se llevaron a cabo varios ensayos utilizando diferentes diluciones; así como también se hicieron varios esquemas de distribución de las diluciones del suero y el virus GET, haciendo los pozos en el Agar a diferentes distancias; hasta que se encontró que el suero positivo conocido daba precipitación en forma constante y uniforme.

Por otro lado, el suero negativo conocido, siempre daba una - reacción negativa.

Se encontró que la prueba se estandarizó con el antígeno 1:5 y que el suero debía colocarse a una distancia de 5 mm. en pozos colocados según el diseño ya señalado. El suero control positivo dió reacción positiva cuando se colocó sin diluir y las diluciones dobles de 1:2, 1:4 y 1:8. Para mayor seguridad se hizo la prueba con suero hiperinmune contra virus GET, preparado en conejo; usando las mismas diluciones que el suero porcino conocido y también el mismo diseño ya descrito; comprobándose que también precipitaba uniformemente.

"INCIDENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA GASTROENTERITIS  
TRANSMISIBLE EN SUEROS PORCINOS EN DIFERENTES -  
ENTIDADES "

En los cuadros 1 al 8 se resumen los resultados de la inciden  
cia de anticuerpos contra GET en sueros porcinos de diferen-  
tes entidades, cuando se probaron con la Prueba Estandarizada  
de Precipitación en Agar que se describió anteriormente. Se  
consideró una reacción positiva cuando la precipitación se pre  
sentaba en la dilución 1:8. En este estudio todas las mues-  
tras de suero consideradas como positivas precipitaron con el  
suero sin diluir y en las diluciones 1:2, 1:4 y 1:8. Al mismo  
tiempo todas las muestras consideradas como negativas no pre  
cipitaron aún con el suero sin diluir.

CUADRO No. 1: Incidencia observada en muestras del Sur de Sonora

Total de muestras	Número de positivas	Edad de los cerdos	% positivas
100	9	Aproximadamente de 7 a 8 meses	9

CUADRO No. 2: Incidencia observada en muestras de Cd. Guzmán, Jal.

Total de muestras	Número de positivas	Edad de los cerdos	% positivas
50	1	Aproximadamente de 7 a 8 meses	2

CUADRO No. 3: Incidencia observada en sueros provenientes de La Piedad, Mich.

Total de muestras	Número de positivas	Edad de los cerdos	% positivas
100	10	Aproximadamente de 7 a 8 meses	10

CUADRO No. 4: Incidencia observada en sueros de Irapuato, Gto.

Total de muestras	Número de positivas	Edad de los cerdos	% positivas
100	1	Aproximadamente de 7 a 8 meses	1

CUADRO No. 5: Incidencia observada en sueros de Toluca, Méx.

Total de muestras	Número de positivas	Edad de los cerdos	% positivas
80	5	Aproximadamente de 7 a 8 meses	6.2

CUADRO No. 6: Incidencia observada en sueros de cerdas adultas de desecho provenientes de Toluca, Méx.

Total de muestras	Número de positivas	Edad de los cerdos	% positivas
20	12	hembras adultas de desecho	60

CUADRO No. 7: Incidencia observada en sueros del Distrito Federal

Total de muestras	Número de positivas	Edad de los cerdos	% positivas
50	1	Aproximadamente de 7 a 8 meses	2

CUADRO No. 8: Incidencia observada en el total de las muestras - (500) estudiadas.

Número de muestras	Número de positivas	% positivas general
500	39	7.8

## IV. - D I S C U S I O N

La Técnica de Precipitación en Agar es una prueba en la cual, para que se pongan de manifiesto las líneas de precipitación, es necesario encontrar el punto de equivalencia de la reacción antígeno-anticuerpo; es decir debe de ser un medio en donde no haya exceso de anticuerpos ni de antígeno. Para encontrar este punto de equilibrio fue necesario hacer una serie de ensayos de las diluciones, tanto de la suspensión del virus GET como del suero positivo conocido. Los primeros ensayos de diluciones no resultaron debido a que en ellas se usaron el suero muy diluido o el antígeno (virus GET) muy concentrado o viceversa. En algunos de estos intentos sí hubo líneas de precipitación, sólo que éstas se formaron en la periferia de los pozos que contenían las diluciones del suero y no en el área localizada entre el pozo central que contenía la dilución del virus y los pozos a su alrededor que contenían las diluciones del suero. Después de varios intentos se logró encontrar que la dilución 1:5 del antígeno (virus GET), junto con el suero sin diluir y las diluciones de 1:2, 1:4 y 1:8 o más, eran las que formaban bandas de precipitación entre el pozo central del antígeno y los pozos periféricos del suero.

Una vez estandarizada la prueba y que se comprobó que los -

sueros positivos conocidos precipitaban siempre con las proporciones de los reactivos colocados en los pozos a las distancias ya señaladas y que los sueros negativos conocidos no precipitaban; se procedió a probar las muestras de los cerdos provenientes de diferentes entidades. No se conocen agentes patógenos propios del cerdo que tengan relaciones antigénicas con el virus de Gastroenteritis Transmisible, por lo que podría pensarse que una reacción de precipitación a cualquier dilución podría tomarse como positiva, sin embargo ante la duda de la existencia de dicho patógeno o patógenos, se consideraron positivas sólo las muestras que reaccionaron en forma semejante a los sueros positivos conocidos. Ya se señaló en los resultados que no hubo reacciones que pudieran considerarse como sospechosas, ya que todos los sueros negativos no precipitaron al colocarse en el Agar el suero sin diluir o a cualquier otra dilución.

Se probó un suero hiperinmune preparado en conejo que había recibido inoculaciones repetidas del filtrado de la suspensión de intestino afectado con virus de GET. Con este suero podrían manifestarse líneas de precipitación que pudieran corresponder a la precipitación de antígenos provenientes del tejido intestinal contra los cuales reaccionó el conejo durante el proceso de hiperinmunización. Sin embargo, al llevar a cabo la prueba con el suero hiperinmune de conejo y observar las líneas de precipitación y compararlas con las presentadas en la reacción producida por sueros porcinos conocidos-

como positivos, no se observó diferencia. Los sueros porcinos como positivos se obtuvieron de cerdos convalescientes de la infección de gastroenteritis transmisible y la inducción lógica indica que los anticuerpos responsables de la precipitación en la prueba, corresponden a los formados como resultado de la infección con el virus de gastroenteritis transmisible.

Esta prueba permite hacer un diagnóstico individual o un estudio epizootológico con gran número de muestras para conocer la incidencia de la enfermedad en un grupo determinado o en la población porcina de una región como es el caso de este estudio.

La prueba resulta sencilla y económica, y puede llevarse a cabo una vez estandarizada por personal que tenga un mínimo de entrenamiento; no se necesitan materiales sofisticados de laboratorio y su lectura puede hacerse entre 12 y 24 horas. La lectura es muy fácil, ya que sólo se observaría la formación de líneas de precipitación que son muy características.

Las muestras estudiadas del Sur de Sonora revelaron una incidencia del 9% y provienen de animales de 7 a 8 meses de edad. Los sueros de Cd. Guzmán, Jal. revelaron sólo un suero positivo que representa el 2% (una de 50). En las muestras de La Piedad, Mich. que fueron 100 en total, se encontraron 10 sueros positivos los cuales representan el 10% de inciden--

cia en este lote. Por lo que toca a los sueros de Irapuato, - Gto. de un total de 100 se observó una muestra positiva, la - que representa el 1% de incidencia. Por lo que respecta a los sueros provenientes del D. F. se encontró una incidencia del - 2% (una de 50). En todos estos casos (Sonora, Cd. Guzmán, - Jal. La Piedad, Mich., Irapuato, Gto. y Distrito Federal), los sueros provenían de animales aproximadamente 7 a 8 meses - de edad. Sin embargo, en las muestras estudiadas de Toluca, Edo. de Méx., se observó la mayor incidencia (17 de 100). - Estas muestras provienen de animales de 7 a 8 meses de edad con una incidencia de 6.2% y de cerdas adultas de desecho con una incidencia de 60% (12 positivas de 20 muestras).

Lo anterior puede indicar que a mayor edad de los animales - mayor incidencia de la enfermedad. Sin embargo, por la natu - raleza de la enfermedad y la forma en que se manifiesta en el cerdo estos resultados pueden explicarse de otra forma. El - virus produce gran mortalidad en animales menores de 5 sema - nas y signos muy benignos en animales de 5 semanas hasta que alcancen la madurez sexual. Cuando el virus afecta a los ani - males que constituyen el pie de cría no se produce mortalidad; pero en gran número de ellos se producen síntomas muy seve - ros y algunos autores piensan que en ellos se produce un esta - do de portador cuando sanan y que; la infección permanente - constituye un estímulo constante para la producción de anticuer

pos. Por otra parte, en los animales en crecimiento y engorda la infección puede incluso llegar a eliminarse y la producción de anticuerpos durar un tiempo relativamente corto (1, 6, 8 y 18).

No existen, desgraciadamente, estudios sistemáticos que se hayan llevado a cabo durante un tiempo suficientemente largo para conocer cuanto tiempo dura la inmunidad en el cerdo a diferentes edades y estados fisiológicos, una vez que se ha recuperado de la infección. Por otra parte en este trabajo no fue posible obtener muestras directamente de animales del pie de cría porcino de las entidades estudiadas, que posiblemente harían variar la incidencia revelada en este estudio. De cualquier modo, la incidencia general observada (7.8%) indica que la infección está bastante difundida entre nuestra población porcina y que ha sido de suficiente severidad como para manifestarse significativamente en sueros de animales que están en engorda.

Se sugiere que se amplíen los estudios serológicos con fines epizootiológicos con sueros de animales de pie de cría, con el objeto de determinar en forma más exacta la incidencia de la enfermedad. Se recomienda también que la importación de animales del pie de cría, así como el movimiento de los mis

mos dentro de las entidades del Territorio Nacional esté condicionado a la posesión de un certificado que indique que él o los animales no tienen anticuerpos contra el virus GET para -- evitar la presencia de portadores sanos en regiones que no han sufrido la enfermedad.

## V. - CONCLUSIONES

- La Prueba de Precipitación en Agar una vez estandarizada es segura y confiable para detectar anticuerpos precipitantes contra el virus de Gastroenteritis Transmisible.
  
- Se observó una incidencia del 7.8% en un total de 500 muestras estudiadas que provenían de diferentes entidades de la República.
  
- En cerdas adultas de desecho provenientes de Toluca, Edo. de Méx.; la incidencia observada fue del 60%.

## VI.- BIBLIOGRAFIA.

1. Bohl, E. H.: "Transmissible Gastroenteritis", in "Diseases of Swine". Ed. by Dunne, H. W., The Iowa U. Press, 158-176: -- 1970 3a. Ed.
2. Bohl, E. H.: "Transmissible Gastroenteritis of Swine". Ohio - Agricultural Research, Development Center, Technical Bulletin No. (1969).
3. Bohl, E. H., Easterday, B. C., Haelterman, E. O., Kirkham, W. W., Mc Clurkin, A. W. and Pilchard, E. I.: "Report of the sub comitte on Establishing criteria for the Diagnosis of Trans-- missible Gastroenteritis of Swine". U.S. Livestock Sanitary- Assn. 70th. Ann- Meeting (1966).
4. Burnham, H. J. K. MVZ. Comunicación Personal, Celaya, Gto., - (1976).
5. Crowle, J. A.: "Immunodiffusion", Academic Press (1962).
6. Ferris, D. H.: "Epizootiologic features of Transmissible - - Swine Gastroenteritis", J.A.V.M.A., 59, 184-194 (1971).
7. Green, J.: "Gastroenteritis Transmisibile en el cerdo", Porci- rama, Méx., No. 39-40, p.p. 21-22 (1975).
8. Haelterman, E.O.: "Transmissible Gastroenteritis of swine" -- Proc. 17th. World Vet. Congress I.: 615-618 (1963).
9. Hooper, B. E., Haelterman, E. O.: "Growth of Transmissible -- Gastroenteritis virus in young Pigs", Am. J. Vet. Res., 27: - 286. (1966).
10. Konishi, S., Bankowski: "Use of Fluorescein-labeled antibody- for Rapid Diagnosis of Transmissible Gastroenteritis in Expe- rimentally Infected pigs", Am. J. Vet. Res. 28: 937-942 -- (1967).
11. Lezama Adolfo, MVZ. Comunicación personal, México, D. F. - - (1976).

12. Mc Clurkin, A. W.: "Studies on Transmissible Gastroenteritis of Swine", Can. of Com. Med. and Vet. Sci, 29: 46-55 (1965).
13. Olguín, R. F.: "Persistencia del virus de la Gastroenteritis-transmisible en cerdos recuperados de la enfermedad". Porcira-rama, México, No. 51: 23-29 (1976).
14. Olguín, R.F.: "Aislamiento del virus de Gastroenteritis - - Transmisible de los cerdos", Veterinaria, México, 2: 11-16 - (1970).
15. Ramiro, R. N.: "Diarreas víricas en los cerdos", Porcira-rama - México, No. 17: 9-11 (1973).
16. Romano, P.J.J., Velázquez, E.A., y Olguín, R. F.: "Relaciones antigénicas del virus de la Bronquitis Infecciosa de las -- aves con el de la Gastroenteritis Transmisible de los cerdos" Veterinaria, Méx. 6: 38-47 (1975).
17. Secretaría de Industria y Comercio, V Censo Agrícola-Ganade-ro y Ejidal 1970, Dir. Gral. de Estadística, p.p. 264-267 - (1975).
18. U.S. Livestock Sanitary Ass. Comitte on Transmissible Di--seases of Swine, Report for 1967.
19. Young, A. G., Underdahl, R. N., and Hinz, W. R.: "A serum - neutralization test for Transmissible Gastroenteritis of -- Swine", Cornell Vet. 43: 561-567 (1953).