



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**TRATAMIENTO DE SALMONELOSIS EN CERDOS CON
INMUNOGLOBULINAS SERICAS ADMINISTRADAS
POR VIA ORAL**

TESIS PROFESIONAL

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

P R E S E N T A :

DORA LETICIA GUERRERO ONTIVEROS

ASESORES:

**M. C. HECTOR BARBOSA N.
M.V.Z. JORGE R. LOPEZ MORALES**



MEXICO, D. F.

1984



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.

ESTE TRABAJO FUE REALIZADO EN EL DEPARTAMENTO DE
INMUNOLOGIA DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIO-
MEDICAS; EN LA GRANJA EXPERIMENTAL PORCINA Y EN
EL DEPARTAMENTO DE PRODUCCION ANIMAL: CERDOS, AM-
BOS DE LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOO-
TECNIA.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ASESORES:

M.C. HECTOR BARBOSA NAJERA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMEDICAS

M.V.Z. JORGE R. LOPEZ MORALES
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

I N D I C E

	PAGINA
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
HIPOTESIS	9
OBJETIVO	10
MATERIAL Y METODOS	11
RESULTADOS	19
DISCUSION	31
CONCLUSIONES	33
LITERATURA CONSULTADA	34

INDICE DE CUADROS Y FIGURAS.

	PAGINA
CUADRO No.1	12
CUADRO No.2	20
CUADRO No.3	24
CUADRO No.4	25
CUADRO No.5	28
CUADRO No.6	29
CUADRO No.7	30
FIGURA No.1	23
FIGURA No.2	26
FIGURA No.3	27

TRATAMIENTO DE Salmonelosis EN CERDOS CON INMUNOGLOBULINAS
SERICAS ADMINISTRADAS POR VIA ORAL.

R E S U M E N

Se inmunizaron cinco cerdos adultos con un extracto crudo de Salmonella cholerae-suis y ocho días después del último estímulo antigénico fueron sacrificados en el rastro. Su sangre fue colectada y del suero se precipitaron las inmunoglobulinas, que resultaron tener buena actividad cuando se probaron in vitro (aglutinación e inmunolectroforesis).

Cuatro camadas de cerdos de siete días de edad fueron desafiados con 10^{10} bacterias de Salmonella cholerae-suis y estuvieron vigilados estrechamente después del desafío. A las 96 horas el 100% de los animales presentaron signos de enfermedad. La mitad de los individuos de cada camada fueron tratados con 15 g de inmunoglobulinas específicas administradas en tres dosis diarias de 5 g cada una por un período de siete días. La vigilancia y registro de los ratos se prosiguió hasta el destete. El 75% de los animales controles fallecieron y del grupo experimental que recibió tratamiento con inmunoglobulinas séricas murió el 61.53% .

De los animales enfermos se tomaron muestras de sangre y materia fecal. En los animales muertos se practicó la necropsia tomando muestras de bazo, vesícula biliar e hígado para cultivo bacteriano encontrando la salmonela en un 80% de las muestras, por lo cual se concluye que la enfermedad adoptó la forma mixta (entérica y septicémica) y que, por tal motivo el tratamiento con inmunoglobulinas séricas por vía oral resultó infructuoso.

I N T R O D U C I O N

Las pérdidas económicas en las explotaciones porcinas, se -
deben a muchos factores, pero principalmente a la elevada morbili-
dad y mortalidad que ocurre entre el nacimiento y el destete (5,9,
12,14,31,37). Las enfermedades entéricas ocupan el primer lugar,
causando un promedio del 80% del total de las muertes en los recién
nacidos (49).

Las infecciones gastrointestinales tienen multitud de agentes
causales, pero son las de origen bacteriano las más frecuentes y
de las que se tienen mayor acopio de conocimientos (35). Uruchurtu
y cols. (49) informan que en México, entre las enfermedades enté-
ricas más comunes del recién nacido, destacan la colibacilosis - -
entérica, la gastroenteritis transmisible, y la enteritis necrótica
causada por el Clostridium perfringens tipo C. Recientemente se han
mencionado otros agentes de importancia clínica como los rotavirus
(2).

Sin embargo, en diagnósticos confrontados de epizootias de -
enfermedades entéricas de cerdos recién nacidos, es frecuente el
aislamiento de la Salmonella spp. patógena (10,50).

La salmonelosis es una enfermedad de lechones destetados pero
considerada rara en lechones lactantes (50) aunque puede presen-
tarse (10). Es una enfermedad infecciosa de distribución mundial
propia de todas las especies (4,11), su amplia distribución en
la naturaleza permite suponer el por qué de su persistencia como
patógeno en animales y hombre. Las fuentes de infección posibles
son entonces múltiples y se pueden incluir entre otros el agua,
alimentos (22,31,33), roedores, pájaros, hombre y animales de
importancia pecuaria (6,11,43).

La gran mayoría de las especies de salmonela identificadas hasta ahora son consideradas patógenas y pueden infectar o ser transportadas por una sorprendente variedad de huéspedes (11,28, 32) . El cerdo es reconocido como un reservorio común de la salmonela (11,30,31), ya que se ha aislado tanto en cerdos enfermos como en clínicamente sanos (11,19,30). Existen cientos de salmonelas reportadas sin embargo sólo unas cuantas se encuentran involucradas en la etiología de las salmonelosis en cerdos. La Salmonella cholerae-suis es uno de los serotipos más importantes adaptados al cerdo (51,52) afectando un 80% y en menor proporción S. typhimurium, S. derby y S. typhisuis siguiendo el orden de importancia (10).

Entre las formas más comunes de contaminación del cerdo cabe mencionar la ingestión de alimento y agua contaminada, aves, roedores y contacto con animales enfermos y portadores asintomáticos (13,19,20,43). Sus manifestaciones clínicas se caracterizan por un cuadro clínico entérico y/o septicémico, aunque puede haber cierta concurrencia entre estos dos síndromes, es más común que se manifieste aisladamente como uno u otro (11,20).

Grosh (13), estudió por 2 años la incidencia de la salmonela en cinco granjas por cultivo de heces frescas. Los 4 serotipos más persistentemente aislados en las granjas fueron: S. bredeney, S. duban, S. typhimurium phaje tipo 1 y S. heidelberg. La bacteria es portada en el intestino, pero también en los ganglios linfáticos regionales del tubo digestivo, de tal modo que los animales pueden no eliminarla con las heces (20).

La alta incidencia de salmonela en los nódulos linfáticos (8,

16, 17, 26, 29, 40) es de gran importancia debido a que éstos son rutinariamente examinados durante la inspección de la carne, por lo que al incidirse podrían contaminar los órganos adyacentes o el resto de la canal. Mc Coughrey y cols. (29) estudiaron 300 muestras positivas de crinales aparentemente sanos. Estos investigadores enfatizan que la incidencia de la infección latente es más alta que el número de casos de infección clínica.

Gallejos (11) de 100 vesículas biliares, de cerdos aparentemente sanos destinados al consumo humanos, seleccionados al azar encontró 13 muestras positivas a Salmonella spp.

En México, del promedio de 37.15% de muestras en cerdos por procesos infecciosos entéricos, el 3.65% corresponden a la salmonelosis. Dita más alto que el reportado como frecuencia de salmonela en otros animales domésticos cuya reportabilidad se calcula de 1-3% (15).

En los E.E.U.U. en 1930 se reportaron 2515 aislamientos de salmonela de origen no humano, de los cuales: 265 fueron en guajolotes, 210 en pollos, 476 pertenecieron a los cerdos, 480 en bovinos y 1084 fueron obtenidos de los animales domésticos restantes. De ese total expresado el 19% corresponde al de origen porcino (6).

Estos niveles altos de infección pueden deberse a la contaminación de vehículos de transporte así como de corrales en los rastros por los animales portadores. Esta contaminación también sucede en los tanques de escaldado así como en las pulidoras después del sacrificio (25, 26, 29).

Las enfermedades gastrointestinales en la población humana siguen ocupando un lugar sobresaliente siendo las diarreas la causa de un 20-30% del total de las defunciones en los niños mayores de cinco años (39,48), mientras que en los menores de un año el porcentaje es del 50-55%. La ingestión de alimentos contaminados, entre ellos la carne, es sin duda un factor decisivo en la transmisión de este tipo de infecciones (1,8,16,19).

La salmonelosis es una verdadera zoonosis, capaz de vivir en la naturaleza por ciclos en huéspedes no humanos (4,12,43). Las salmonelas son identificadas frecuentemente en el hombre como causante de infecciones asintomáticas (4,12,13,17,19,28,31,33,43,51). Su frecuencia tanto en el número de casos como el número de muertes tiene una relación inversa al saneamiento, la nutrición, la educación higiénica individual y colectiva, así como la calidad, disponibilidad y utilización adecuada de recursos sanitarios asistenciales (11,39,48).

La sintomatología puede variar de forma inaparente, a enfermedad grave aguda que puede ser fatal en los individuos jóvenes, viejos o particularmente débiles. En los E.E.U.U. casi dos millones de personas son atacadas anualmente (43). El Departamento de Salud Pública reportó en 1980, 30 004 aislamientos en humanos, siendo un total de 224 diferentes serotipos de salmonela aislados correspondiendo el primer lugar a S. typhimurium. La incidencia en los aislamientos mostró un patrón estacional con un gran número de reportes en el período julio-noviembre y menores en enero-abril. De estos casos reportados el 22.7% pertenecieron a personas menores de 1 año, el 40.9% a menores de 5 años y el restante correspondió a personas menores de 20 años (6).

En Asia, Africa y América Latina se registran anualmente 500 millones de casos de diarrea en niños menores de 5 años de edad de los cuales por lo menos 5 millones mueren (35,34,48). En nuestro país a este respecto constituye uno de los problemas de salud más importantes. Los datos de morbilidad-mortalidad reflejan la magnitud del problema; entre 1976-1980 las enfermedades entéricas y otras enfermedades diarreicas ocuparon el primero y/o segundo lugar en mortalidad (35).

Pérez y cols. (35) estudiaron 300 muestras obtenidas mediante hisopo rectal, en los meses de julio a noviembre de 1982, La incidencia de bacterias enteropatógenas fue de 23.3%, correspondiendo el 7.3% a la salmonela. Con respecto a la edad el mayor porcentaje se observó en el grupo de menores de un año de edad.

La adición de varias drogas en el alimento y agua son procedimientos comúnmente utilizados para el tratamiento y control de la salmonelosis porcina, existiendo una variación en los resultados reportados. Olson y cols. (34) utilizaron Furazolidona y Carbadox, como aditivos en el alimento para el tratamiento de cerdos infectados experimentalmente con Salmonella cholerae-suis var. kunzendorf; resultando parcialmente efectivo como tratamiento. Wilcock y cols. (51) estudiaron la influencia de agentes terapéuticos sobre la subsecuente infección clínica en animales inoculados con S. typhimurium y concluyeron que los antibióticos pueden jugar un papel en la prevención pero no en el tratamiento de salmonelosis entérica causada por S. typhimurium.

Por otra parte, Sojha y Wray (41) estudiaron la resistencia de diferentes cepas de salmonela a ocho drogas antibacterianas - observándose un incremento de ésta resistencia progresivamente de 35 registradas en 1975 a 62 en 1978.

El uso indiscriminado de los agentes quimioterapéuticos para controlar y/o tratar las infecciones causadas por salmonelas (17, 27, 31) abre la posibilidad de utilizar anticuerpos séricos específicos para la protección del recién nacido, eliminando así la posibilidad de contaminación de la carne, destinada al consumo con productos químicos y la selección de cepas bacterianas resistentes a antibióticos.

Los mamíferos cuentan con mecanismos de defensa específicos e inespecíficos. A nivel intestinal los mecanismos específicos a través de anticuerpos se encuentran involucrados en la eliminación de bacterias, virus y parásitos (21, 36, 42, 44). La mayoría de los anticuerpos en el feto son transferidos por la madre en algunas especies como los primates y roedores a través de la placenta (38, 46). En el cerdo, caballo y rumiante recién nacido, sin embargo, es a través de la ingestión de calostro, durante la lactación (24, 38, 46).

La alta morbilidad de procesos diarreicos observada en los recién nacidos hace pensar que los anticuerpos normalmente presentes en la luz intestinal son insuficientes para controlar los desafíos a los que se encuentran expuestos.

Los intentos para incrementar la concentración de estos anticuerpos intestinales a través de la inmunización con antígenos por vía oral, no han sido completamente exitosos. La inmunidad es de corta duración probablemente porque las células plasmáticas en la pared intestinal son de vida media corta (47). La inmunización sistémica en cerdas gestantes no produce mejores resultados debido a que los anticuerpos séricos en las cerdas no atraviesan placenta y tampoco son secretados dentro de la luz intestinal, ni en la leche (7, 32, 37, 38, 46).

Se ha logrado con éxito la protección de los lechones cuando las madres son inmunizadas durante la gestación ya sea por vía oral o en las glándulas mamarias (8), o bien con la administración por vía oral de anticuerpos séricos (15). Es posible que los anticuerpos puedan ser desnaturalizados por el jugo gástrico y ambiente proteolítico del intestino. Tal evento puede ser reducido por la administración de grandes volúmenes de anticuerpos séricos, de tal manera que al menos una parte de tales anticuerpos no pierdan su función biológica de interactuar con los antígenos. Esto es posible dado que grandes cantidades de anticuerpos específicos pueden ser obtenidos de la sangre de adultos inmunizados durante su sacrificio en los ratos (3).

H I P O T E S I S .

Las inmunoglobulinas séricas (IgG principalmente), administradas por vía oral suplementando la lactancia son capaces de interaccionar con agentes patógenos en la luz intestinal de animales neonatos tan eficientemente como la IgA secretora, V.gr. pueden utilizarse para el tratamiento de enfermedades infecciosas.

O B J E T I V O .

Estudiar si la administración por vía oral de inmunoglobulinas séricas (IgG principalmente) específicas contra Salmonella cholerae-suis en lechones, suplementando la lactancia, son capaces de eliminar el agente patógeno una vez que éste se ha establecido.

M A T E R I A L Y M E T O D O S

Diseño Experimental

Cuatro camadas de lechones de siete días fueron desafiados por vía oral con 10^{10} U.F.C. (unidades formadoras de colonias) de Salmonella cholerae-suis; fueron vigilados estrechamente y al momento de aparecer signos clínicos de la enfermedad, la mitad de los individuos de cada camada fueron tratados con inmunoglobulinas séricas específicas por vía oral. Tres tomas al día a dosis de 5 g en 5 ml se administraron durante 7 días. Los lechones restantes de cada camada se dejaron sin tratamiento y sirvieron como control (cuadro 1).

Los animales fueron examinados 3 veces al día registrando - datos sobre condición física general, temperatura, consistencia de heces y cualquier otro signo que pudiese ser observado. Estos datos fueron registrados en forma individual. Se tomaron muestras de sangre y materia fecal para hacer estudios bacteriológicos y en el caso de muerte se practicó la necropsia, tomándose muestras de diversos tejidos principalmente hígado, bazo y vesícula biliar. La observación se suspendió al momento del destete (28 días).

CUADRO 1
DISEÑO EXPERIMENTAL

		Días de Nacidos																					
		7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
No. de camada	Eventos																						
1	50% Exp. D' T.	al aparecer signos clínicos																					
	50% Cont. D' S.T.																						
2	50% Exp. D' T.	al aparecer signos clínicos																					
	50% Cont. D' S.T.																						
3	50% Exp. D' T.	al aparecer signos clínicos																					
	50% Cont. D' T.																						
4	50% Exp. D' T.	al aparecer signos clínicos																					
	50% Cont. D' S.T.																						

Exp. = Experimental

Cont. = Control

D' = Desafío con 10^{10} (UFC) de Salmonella cholerae-suis

T. = Tratamiento con inmunoglobulinas séricas 15 g. por día/anticuerpos/fraccionados en tres tomas.

S.T. = Sin tratamiento

Medios de Cultivo:

De las muestras tomadas se procedió a sembrar en medios selectivos primarios para el aislamiento de la bacteria en: caldo - tetracionato, agar Salmonella-Shigella, agar eosina de metileno - (EMB) y medios de sulfito bismuto. Las pruebas bioquímicas para la identificación del género salmonela: agar tergitol, infusión cerebro y corazón + gel bact., agar Simmons, MR - AP, agar XLD, medio Sim, Mac Conkey, hierro y lisina. Finalmente se identificó la especie por medio de pruebas serológicas.

Adyuvante

Se utilizó Adyuvante Completo de Freund (AFC) para inmunizar a los cerdos adultos. Se preparó mezclando 85 partes de aceite mineral con 15 partes de lanolina y cinco mg/ml de Mycobacterium tuberculosis H37 Rv esterilizado en autoclave y liofilizado. Para la inmunización se mezclaron volúmenes iguales de antígeno y adyuvante.

Antígeno:

Bacteria.- La cepa de Salmonella cholerae-suis fue donada por el Departamento de Microbiología de la F.M.V.Z., U.N.A.M.

El antígeno se obtuvo de acuerdo al método de Tato y cols. (45) que brevemente se describe: Se sembró una pequeña cantidad de bacterias en 50 ml de caldo soya tripticasa incubando toda la noche a 37°C; se resembró en 7 l de caldo de soya tripticasa el cual se incubó a 37°C por 4 hr.

Las células fueron cosechadas por centrifugación a 16 000 xg durante 15 min a 4°C en una centrifuza sorvall RC-2B. Las células fueron resuspendidas en acetona fría previamente deshidratada con cloruro de calcio. La suspensión se agitó por 10 min filtrándose posteriormente a través de un filtro de vidrio usando una bomba de vacío este paso fue repetido dos veces. Finalmente las células se lavaron con cloroformo frío de la misma manera. Para evaporar los residuos de cloroformo el polvo se dejó durante 48 hr en una cámara de vacío.

El polvo bacteriano fue resuspendido en una solución amortiguadora de fosfatos (PBS) 0.012 M, pH 7.2, conteniendo cloruro de magnesio 0.012 M, sacarosa 0.25 M, deoxicolato 0.4% y cloruro de potasio 0.1 M. Por último se agregó desoxirribonucleasa a una concentración final de 20 µg/ml. Después de una hora de incubación a 38°C en agitación constante, el material fue dializado durante 3 días con cambios frecuentes de solución amortiguadora de fosfatos 0.01 M, pH 7.2, conteniendo cloruro de magnesio 0.012 M, y cloruro de potasio 0.1 M.

La mezcla dializada se centrifugó a 36 000 xg durante 15 min a 4°C, este producto final se utilizó para inmunizar a los cerdos adultos.

Preparación del Cultivo para el Desafío de Lechones:

Se cultivó Salmonella cholerae-suis en 50 ml de caldo de soja tripticasa, incubando en agitación por cuatro horas a 37°C. Se resembró en cajas de Petri para cultivo conteniendo medio sólido con caldo de soja tripticasa más agar al 1.5%, se incubó toda la noche a 37°C. Las bacterias fueron cosechadas en solución salina isotónica y se conservó la suspensión en hielo hasta el desafío.

El número de bacterias se determinó leyendo la densidad óptica (D.O.) de la suspensión en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 550 nm. Se conoce que una densidad de 0.1 comprende aproximadamente a 10^6 bacterias. El número de bacterias viables fue determinado sembrando diferentes diluciones en cajas de Petri conieriendo el mismo medio de soya, las cajas se dejaron incubar toda la noche para contar al día siguiente el número de colonias.

Producción del suero hiperinmune

Cinco cerdos Hampshire/Duroc de cuatro meses de edad, provenientes de la Granja Experimental Porcina de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Nacional Autónoma de México, fueron utilizados para la obtención del suero hiperinmune. Se inmunizaron con un extracto crudo de Salmonella choleraesuis, la dosis de antígeno fue de 5mg de proteína por estímulo antigénico, por cuatro ocasiones con intervalos de quince días (53). Las dos primeras inmunizaciones fueron administradas con AFC volumen a volumen, por vía subcutánea en la base de la oreja izquierda y las dos últimas sin adyuvante por vía intramuscular en la pierna. Ocho días después del último estímulo antigénico, los cerdos fueron sacrificados en el rastro y la sangre colectada para la obtención de inmunoglobulinas.

Un grupo control con el mismo número de animales, tuvieron la misma alimentación y manejo que el grupo experimental (cuadro 2).

Obtención de los Anticuerpos del Suero Hiperimmune:

La sangre de los cerdos sacrificados en el rastro se dejó coagular a temperatura ambiente, posteriormente a 4°C para permitir la retracción máxima del coágulo, el suero fue separado por decantación y centrifugado a 1 500 rpm durante 15 min a 4°C para eliminar restos celulares.

La separación de las inmunoglobulinas del suero se efectuó por precipitación con sulfato de amonio a concentración final de 33%. Método que consiste en añadir lentamente el en constante agitación a una solución saturada de sulfato de amonio (pH 8.0). La proporción de suero y solución saturada de sulfato de amonio fue de 1 parte del primero por 2 partes del segundo. Hecha la mezcla se centrifugó a 6 000 rpm durante 20 min a 4°C, se eliminó el sobrenadante y se resuspendió el precipitado en agua destilada volviendo a agregar la solución saturada de sulfato de amonio y de nuevo se centrifugó. Esto se repitió hasta que el sobrenadante fue transparente. El precipitado se resuspendió en PBS, para después ser dializado contra la misma solución para eliminar el sulfato de amonio. Posteriormente se conservaron a -70°C hasta su uso en los lechones experimentales.

Determinación del Título de Anticuerpos Producidos:

Ocho días después de cada inoculación del antígeno, se sangraron los cerdos para determinar el nivel de anticuerpos producidos. Se obtuvieron aproximadamente 15 ml de sangre de la oreja, —

dejándolos reposar en refrigeración a 4°C. Posteriormente se eliminó el coágulo y se centrifugó a 2000 rpm durante 15 min para -- separar el suero. Pevio a esto se cultivó la bacteria y posteriormente se suspendió en solución salina isotónica. Para determinar el título de anticuerpos se utilizó la prueba de aglutinación directa que consistió en hacer diluciones dobles seriadas del suero obtenido añadiendo a cada una, una gota del antígeno (salmonela). El valor recíproco de la dilución más alta capaz de dar una reacción positiva se llamó título del suero y constituye un indicio de la cantidad relativa de anticuerpos presentes.

También se realizó la prueba de inmunolectroforesis, para lo cual se hizo electroforesis de la mezcla de antígenos en gel de agar al 1% utilizando una solución amortiguadora de barbituratos 0.05 M, pH 8.6, durante dos horas con 1.5 m amps por placa. Posteriormente se corta un canal en el agar, donde se colocó el antisuero y se le permitió difundir durante 24 hrs a temperatura ambiente. Para eliminar el exceso de compuestos capaces de reaccionar que no participaron en la reacción Ag-Ac, las placas se colocaron en solución salina 0.85%, pH 7.4, realizando se tres cambios de solución cada 24 hrs, dejándose posteriormente en agua destilada - una o dos horas.

Para su tinción, las placas se secaron con papel filtro y se tiñieron con solución de negro amido al 1% durante 15 min. Se retiró el exceso de colorante en agua destilada y después con ácido acético al 10% (53).

Desafío:

Cuatro camadas de lechones híbridos Hampshire-Duroc-Landrace fueron utilizados para este estudio. Diez días antes del parto las madres se colocaron en locales de aislamiento previamente desinfectados con jabón y vapor a presión, luego con fenol sintético y finalmente con gases de formaldehído y permanganato de potasio.

Se atendieron los partos, identificaron las camadas y mantuvieron a los cerdos en lechoneras con fuentes de calor. Al tercer día, a cada lechón se le inyectaron 2 ml de hierro dextrán por vía intramuscular.

Se permitió la lactancia a libertad y a los 15 días se inició la alimentación sólida con un concentrado con un 22% de proteína. A las cerdas se les proporcionó alimento de lactación de acuerdo al número de lechones por camada.

R E S U L T A D O S

Animales:

Las camadas fueron pequeñas probablemente por ser cerdas - primerizas, pero con peso adecuado al nacimiento que les permitió desarrollarse sanos hasta el desafío. Los lechones después del desafío fueron objeto de una observación estrecha, hasta el destete. Las cerdas no mostraron signos de infección en ningún caso a partir de los lechones enfermos, y al término de la lactancia se desecharon para el abasto.

Producción del Suero Anti Salmonela

Los animales adultos destinados a la obtención del suero anti-salmonela respondieron adecuadamente en el proceso de inmunización sin lesión en la ganancia de peso como se muestra en el cuadro No. 2 donde se comparan con el del lote control que no fue inmunizado. Ambos lotes de cerdas llegaron al peso adecuado en la edad para su salida al mercado.

CUADRO 2

PESOS Y EDADES DE LOS CERDOS UTILIZADOS PARA LA OBTENCIÓN
DE SUERO HIPERINMUNE ANTI Salmonella cholerae-suis

Grupo Experimental

No. anim.	Primer estímulo		Segundo estímulo		Tercer estímulo		Cuarto estímulo	
	Peso Kg	Edad días	Peso Kg	Edad días	Peso Kg	Edad días	Peso Kg	Edad Días
1	70	145	87	159	95	173	112	190
2	67	145	85	159	94	173	109	190
3	72	144	88	158	94	172	105	191
4	49	140	63	154	74	168	90	196
5	62	136	81	150	91	164	106	182
\bar{X}	64	142	80.8	156	89.6	170	104.4	187.8

Grupo Control

No. anim.	Primer estímulo		Segundo estímulo		Tercer estímulo		Cuarto estímulo	
	Peso Kg	Edad días	Peso Kg	Edad días	Peso Kg	Edad días	Peso Kg	Edad días
1	70	140	78	161	96	180	101	194
2	65	129	85	150	104	169	114	183
3	66	129	80	150	89	169	94	183
4	55	129	68	150	85	169	97	183
5	50	129	67	150	87	169	98	183
\bar{X}	59	131	75	152	92	171	100	185

Aislamiento e Identificación de la salmonela en los animales Enfermos

De los animales desafiados con una dosis de 10^{10} UFC de Salmonella cholerae-suis que presentaron sintomatología clínica de la enfermedad se procedió a aislar la bacteria en muestras de sangre para hemocultivos y muestras de heces tomadas con hisopos rectales, y corroborar así el agente etiológico de la enfermedad. Del mismo modo se realizó la necropsia al momento de la muerte de aquellos animales que se encontraron en el período crítico de la enfermedad, haciendo cultivos de hígado, bazo y vesícula biliar. De estos cultivos se pudo aislar e identificar la bacteria en el 80% de los casos.

Determinación del Título de Anticuerpos

Las inmunoglobulinas obtenidas de los cerdos inmunizados tuvieron un título de 1:1024 cuando fueron probados en aglutinación directa. La inmunoelectroforesis realizada, reveló numerosas bandas de precipitación, con lo cual se comprobó que los cerdos inmunizados respondieron al estímulo produciendo anticuerpos específicos que reaccionaron in vitro dando los resultados que se muestran objetivamente en la figura número 1. En esta figura se pueden observar que el antígeno está constituido por diferentes determinantes antigénicos.

Desafío a las Camadas con la Cepa de Salmonella cholerae-suis.

La dosis de desafío resultó ser adecuada para la infección. El número de bacterias viables fue de 10^{10} bacterias. Antes de llevar

a cabo el desafío sucedieron algunas bajas de lechones en las camadas por aplastamiento como causa principal. En ambos casos, experimentales y controles, presentaron signos clínicos de enfermedad a las 24 hr post-exposición con el agente patógeno, como se detallan en los cuadros 3 y 4. El tratamiento se inició de inmediato a la presentación de la enfermedad.

En ambos lotes se presentó diarrea a las 24 hr después, de la exposición. En algunos animales el período de incubación se prolongó hasta las 96 hr como se observa en la figura número 2. La presentación de la enfermedad fue básicamente en forma mixta (entérica y septicémica). Sólo 2 lechones de los del grupo control mostraron la forma septicémica muriendo 48 hr después del desafío, sin ningún signo clínico aparente y sólo uno de ellos con fiebre. La presentación de la diarrea y persistencia de ésta fue de igual severidad tanto en los lotes experimentales como en los controles. No hubo diferencias significativas de acuerdo al análisis estadístico de regresión lineal en relación a las muertes ocurridas en ambos lotes como mostramos en los cuadros 5 y 6 representando este comportamiento la figura número 3.

De los animales que se les realizó la necropsia las lesiones se describen en el cuadro número 7.

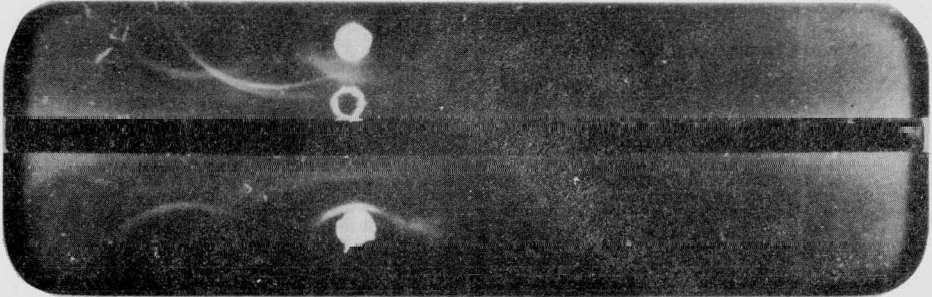


Figura No.1 El antígeno de Salmonella cholerae-suis a una concentración de 10 mg/ml se colocó en los pozos y fue sometido a una electroforesis durante 90 min., después de lo cual se colocó el suero anti-salmonela en el canal, dejándose difundir por 24 hrs. Se pueden observar 8 sistemas Ag-AC.

CUADRO 3

REGISTRO INDIVIDUAL POR CAMADA DE LA SIGNOLOGIA CLINICA POSTERIOR AL DESAFIO

24

Camada No. 1

Lechón No.	Días de nacidos																											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	-	28						
1	-	-	-																									
* 2	-	-	-	-	-	-	D'	df	df°	df°"	dd°f	dd'f&	dd'&f	dd'f&	dd'&f	dd'&°	dd'&°	dd'&f"	M									
* 3	-	-	-	-	-	-	D"	f	f°	df°	df°"	dd'f	dd'f&	dd'f&	M'													
* 4	-	-	-	-	-	-	D'	f	f°	df°	df&°	df&d'	dd'&	dd'&"	dd'&	dd'	dd'	hasta el destete										
* 5	-	-	-	-	-	-	D'		f°	df°"	fdd'	dd'	dd'&	dd'&	dd'&	dd'	dd'	hasta el destete										
** 6	-	-	-	-	-	-	D'		°	d°	df°"	dd'°	dd'	M'														
** 7	-	-	-	-	-	-	D'		f°	f°"	df°"	df°"	dd'°	dd'°&	hasta el destete													

Camada No. 2

Lechón No.	Días de nacidos																											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	-	28						
* 1	-	-	-	-	-	-	D'				d	d	d	dd'	dd'	dd'&	dd'&	hasta el destete										
* 2	-	-	-	-	-	-	D'	f	df	dd'f	M																	
* 3	-	-	-	-	-	-	D'	f	M																			
** 4	-	-	-	-	-	-	D'		d	df	df	df"	dd'f	dd'f"	M'													
** 5	-	-	-	-	-	-	D'		d	df	dd'f	dd'&h	M															
** 6	-	-	-	-	-	-	D'			d	df	df	d	dd'	dd'&	dd'&	dd'&	hasta el destete										

D' = desafío, d = diarrea, " = signos respiratorios, f = fiebre, d' = deshidratación, & = baja de peso, ° + -- otros signos, h - hipotermia, * = tratados, ** = no tratados, M = muerte, M' = muerte por sacrificio.

CUADRO 4

REGISTRO INDIVIDUAL POR CAMADA DE LA SIGNOLOGIA CLINICA POSTERIOR AL DESAFIO

Camada No. 3

Lechón No.	Días de nacidos																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	-
* 1	-	-	-	-	-	-	D'	d	df°	df°	df°	dd'	dd'	dd'	dd' &	hasta el destete					
* 2	-	-	-	-	-	-	D'		df°	df°	df"	dfd' &	dd' &	dd' &	dd' &	hasta el destete					
* 3	-	-	-	-	-	-	D'		df°	df°	df	df	dd' &	M'							
* 4	-	-	-	-	-	-	D'	d	df°	df°	df"	dd'° &	dd' &	M'							
** 5	-	-	-	-	-	-	D'		df°	df°	df°	dd' &	dd' &	dd' &	M'						
** 6	-	-	-	-	-	-	D'	d	df°	df°	df°	dd' &	dd' &°	dd'°	dd'°	M'					
** 7	-	-	-	-	-	-	D'	d	df°	df°	df°	d&°	dd' &	dd' &	dd' &	hasta el destete					
** 8	-	-	-	-	-	-	D'		M												

Camada No. 4

Lechón No.	Días de nacidos																					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	-	28
* 1	-	M																				
* 2	-	-	-	-	-	-	D'		df°	df°	df°	df°	M									
* 3	-	-	-	-	-	-	D'		df°	df°	df°	d&d°	dd' &	dd' &	dd' &	M'						
** 4	-	-	-	-	-	-	D'	d°	df°	df"	df"°	dd' &"	dd" &	M								
** 5	-	-	-	-	-	-	D'		df°	df"	df"	df"d'	dfd'"	M								
** 6	-	-	-	-	-	-	D'		df°	d+f	d+f"	M										

D' = desafío, d = diarrea, d+ = diarrea con estrias, " = signos respiratorios, f + fiebre, d' = deshidratación & = baja de peso, ° = otros signos, * = tratados, ** = no tratados, M = muerte, M' = muerte por sacrificio.

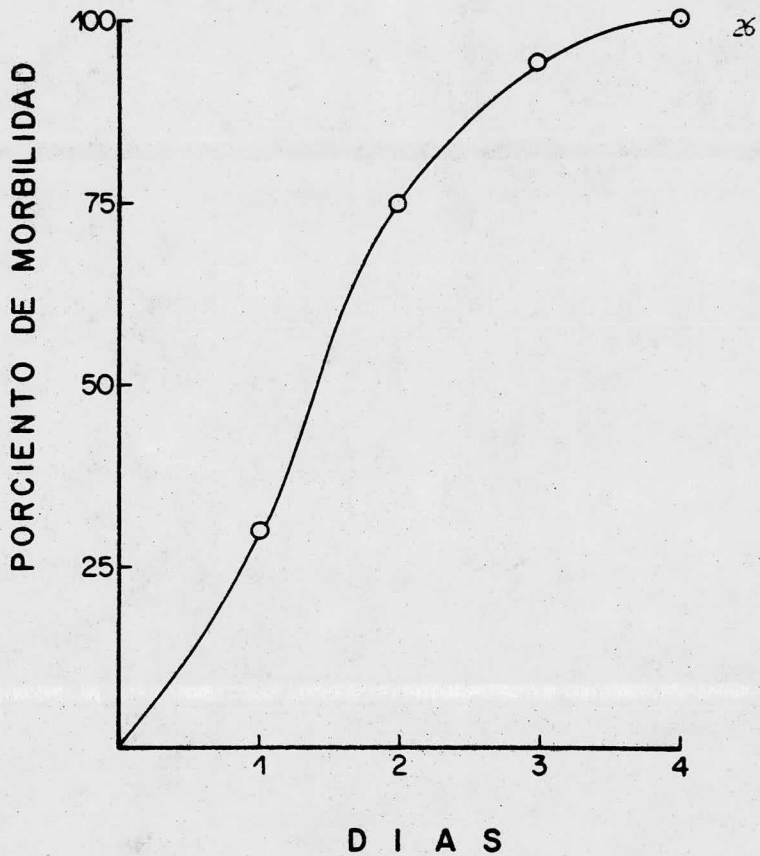


Figura No.2 . Porciento de morbilidad alcanzada post-desafío.

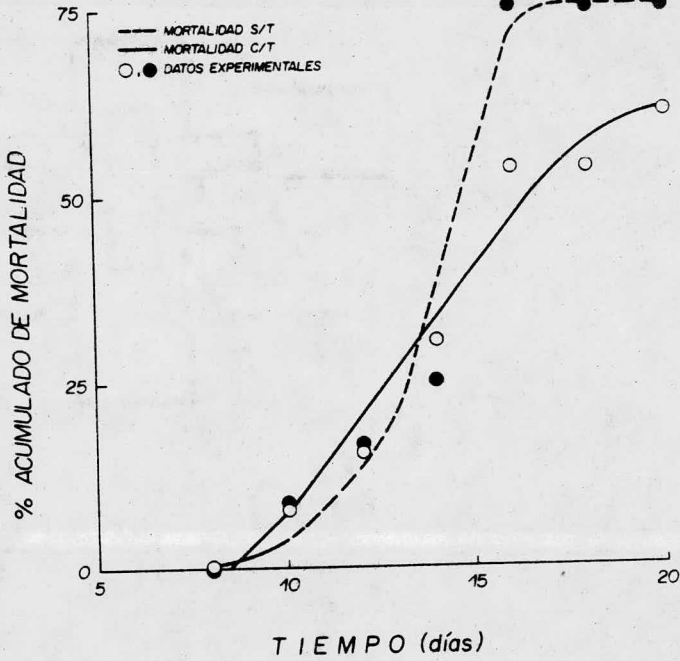


Figura No.3 Porcentajes de mortalidad de los animales tratados (o) y no tratados (o).

En el caso de mortalidad S/T se ajustó el intervalo de variación, marcándose como una línea constante en los últimos puntos.

Cuadro No. 5 Datos sobre mortalidad expresado en porcentajes

Tiempo (Días)	Porcentaje de Animales Muertos	
	Con tratamiento (Total 13 animales)	Sin tratamiento (Total 12 animales)
7	0	0
8	0	0
9	7.69	8.33
10	7.69	8.33
11	15.38	8.33
12	23.07	16.66
13	30.76	25.00
14	30.76	25.00
15	46.15	66.66
16	53.84	15.00
17	53.84	15.00
18	53.84	75.00
19	61.53	75.00

Cuadro No. 6 Agrupamiento de datos según análisis de técnicas estadísticas (22). Los intervalos son todos abiertos a la derecha. Comparación de porcentajes de mortalidad en animales con y sin tratamiento.

Intervalos	Marca de clase	Frecuencia acum. de mortalidad	% acum. de mortalidad
CON TRATAMIENTO			
7-9	8	0	0
9-11	10	1	7.79
11-13	12	3	15.38
13-15	14	4	30.76
15-17	16	7	53.84
17-19	18	7	53.84
19-21	20	8	61.53

SIN TRATAMIENTO			
7-9	8	0	0
9-11	10	1	8.33
11-13	12	2	16.67
13-15	14	3	25.00
15-17	16	9	75.00
17-19	18	9	75.00
19-21	20	7	15.00

Cuadro No.7. Porcentaje de lesiones encontradas de los animales que se les realizó la necropsia.

Mal estado de carnes - - - - -	en 85% de los animales
Deshidratación - - - - -	en 95% de los animales
Hidropericardio - - - - -	en 90% de los animales
Neumonía abscedativa multifocal - - - - -	en 70% de los animales
Gastroenteritis catarral - - -	en 80% de los animales
Ganglios linfáticos aumentados de volumen y congestionados -	en 80% de los animales
Inflamación de mucosa de colon y ciego - - - - -	en 75% de los animales
y pequeñas lesiones diftéricas - - - - -	en 40% de los animales
Bazo ligeramente aumentado de tamaño - - - - -	en 30% de los animales
Hígado y Riñón no se observaron cambios macroscópicos aparentes.	

D I S C U S I O N

El sistema de producción de antisueros en animales destinados al consumo humano, introduce un cambio en la zootecnia ya que, aprovecha un desecho de esta industria en la elaboración de antisueros específicos. Como se demuestra en el cuadro número 2, no se modifica el incremento de peso registrado en el lote testigo. Esto significa que el acoplar la industria de producción de carne con la de la producción de anticuerpos resulta benéfica ya que aprovecha un material de desecho y la producción de carne no se lesiona ni en cantidad ni en calidad ya que en la inspección sanitaria, las canales fueron clasificadas como aptas para el consumo humano.

Se demuestra así mismo que los cerdos son buenos productores de anticuerpos ya que la capacidad aflutinante y precipitante está de acuerdo con la capacidad protectora que mostraron en el lumen intestinal los recién nacidos (15).

El agente patógeno al ser administrado por vía oral fue libre de multiplicarse dentro del tracto gastrointestinal incrementando su efecto endotóxico, estableciendo una bacteremia, produciendo así pequeñas lesiones diftéricas persistentes en el intestino grueso por la destrucción del epitelio causada por el efecto endotóxico localizado.

La presentación de signos clínicos fue con la misma severidad en ambos lotes experimental y control, indicando claramente la presencia del agente patógeno. Para establecer un diagnóstico definitivo de la enfermedad, se realizaron cultivos para la comprobación

del agente etiológico basados en el aislamiento y serotipificación de la salmonela de los diversos tejidos tomados en la necropsia al igual que, en las muestras de sangre e hisopos rectales para hemocultivo y coprocultivo respectivamente. Los hemocultivos demostraron la presencia de la salmonela en el torrente sanguíneo.

Las lesiones encontradas en los animales a los cuales se les realizó la necropsia, no pudieron ser considerados como "lesiones patognómicas" de la salmonelosis, ya que existen enfermedades que son capaces de dar un cuadro similar (23), por lo que hubo que recurrir a la confirmación bacteriológica.

La dosis empleada (10^{10} UFC) para llevar a cabo el desafío indica que esta es capaz de producir enfermedad septicémica y entérica y encontramos que la Salmonella cholerae-suis requiere de un período de incubación corto para presentar rápidamente la sintología de la enfermedad (24 a 96 hr) ver figura número 2. La dosis de bacterias administradas corresponde aproximadamente a una DL_{50} .

Es fácil teorizar el por qué no se encontraron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo experimental.

La salmonela al instalarse en el intestino puede pasar directamente al torrente sanguíneo desarrollando la forma septicémica que observamos en dos casos (lechones muertos a los dos días); o bien desarrollar una patología mixta (entérica y septicémica) lo cual ocurrió en el 100% de los cerdos que enfermaron, ya que aunque la manifestación clínica fue la diarrea, la necropsia reveló alteraciones patológicas compatibles con salmonela de muchos -

fuera del intestino, de donde se pudo aislar el agente patógeno.

Dado que los anticuerpos fueron administrados por vía oral y supuestamente se quedan en ese sitio (18), es imposible que alcancen las bacterias localizadas fuera de la luz intestinal. Los datos de mortalidad, correlacionan muy bien con esta teoría y en tonces se puede concluir que la administración de anticuerpos por vía oral no es el tratamiento adecuado para las formas mixtas (entéricas y septicémicas) de la salmonelosis.

Para propósitos del ajuste de la curva se utilizaron las marcas de clase correspondientes a cada intervalo (ver cuadro número 6). Las ecuaciones ajustadas son : para con tratamiento (—) $m = 15,8662 + 0,03723 t^3 - 0,001377 t^4$ y para sin tratamiento (- - -) $m = 2,2418 - 0,02488 t^3 + 0,0026$ donde m es la mortalidad y t es el tiempo transcurrido. En el caso de los animales controles (sin tratamiento) se ajustó el intervalo de variación, marcandose como una línea constante (últimos puntos) indicando que no ocurren decesos.

C O N C L U S I O N E S .

La inmunización de cerdos en etapa de finalización, sin producir daño o alterar su desarrollo normal, permite el utilizar la sangre como subproducto, para la producción de anticuerpos específicos en grandes volúmenes.

El método utilizado para inmunizar cerdos adultos en el presente trabajo y la metodología empleada para la precipitación de las inmunoglobulinas permite aseverar que en su mayor parte son de la clase IgG. En experimentos previamente realizados con el uso de inmunoglobulinas, se ha demostrado que son capaces de salvar la barrera gastrointestinal, pudiendo permanecer algún tiempo en la luz intestinal cuando se les administra por vía oral y conservar su acción biológica interactuando con los agentes patógenos en el lumen intestinal y neutralizarlos impidiendo su actividad patógena cuando se administran previo a la infección (15). En este trabajo se concluye que una vez establecido el agente en el organismo, las inmunoglobulinas son incapaces de interaccionar con el mismo localizado fuera de la luz intestinal.

En los lechones usados en el lote experimental donde las inmunoglobulinas fueron utilizadas como tratamiento, no se logró su efecto curativo deseado aún cuando la cantidad de inmunoglobulinas administradas fue alta. Se deduce entonces que los anticuerpos séricos administrados por vía oral no es el tratamiento adecuado para las formas mixtas (entérica y septicémica) de la salmonelosis.

L I T E R A T U R A C O N S U L T A D A

- 1.- Aluja S. de, Aline: Aspectos económicos y salud pública en relación al sacrificio de los cerdos. Memorias del Curso ' Inspección Sanitaria de la Carne de Cerdo '. Fac. de Med. Vet. y Zoot. : 2-17 1982.
- 2.- Anónimo. : Más sobre diarreas en lechones. Agrosíntesis, 10: 84-85 1979.
- 3.- Barbosa, H., Ravines, J., Garza, J. y Larralde, C. : Producción masiva de antitoxina tetánica en cerdos. Tec Pecuaría en México., 41 :42-51 (1981).
- 4.- Bautista, G.C.R., : Aislamiento e identificación de grupos serológicos de Salmonellae spp. en heces de cerdos aparentemente sanos. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. UNAM. Méx. D.F. 1975
- 5.- Bryant, J. : Health and Developing World. Cornell University Press 1969.
- 6.- Centers for disease Control Salmonella surveillance. US Department of Health and Human Services. Public Health Service 1982.
- 7.- Chidlow, J.W., Porter, P. : Intestinal defence of the neonatal pig: Interrelationship of gut marmory function providing surface immunity against colibacilosis. Vet. Rec., 104: 496-499 (1979).
- 8.- Childers A.B., Keahey, E.E., Kotuta, A.W. : Reduction of salmonela and fecal contamination of pork during swine slaughter. J. Am. Vet. Med. Ass., 71 : 1161-1164 (1977).
- 9.- Estrada, C.A. y Enríquez, E. C. : Diagnóstico simplificado de las - diarreas infecciosas más comunes en lechones. Vet. Méx., 14 :93-102 (1983).
- 10.- Flores, C.J. : Salmonelosis. Porcivama, VIII (89) : 13-26 (1982).
- 11.- Gallegos, B.V.A. : Aislamiento de Salmonella spp. en vesícula biliar de cerdos aparentemente sanos. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. UNAM. Méx. D.F. 1970.
- 12.- García, V.Z.S. : Efectos terapéuticos del adipato de espiramicina en infecciones entéricas de los lechones. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. UNAM. Méx. 1970.

- 13.- Ghosh, A.C. : An epidemiological study of the incidence of salmonellas in pigs. J. Hyg. Camb., 70 : 151-160 (1972)
- 14.- Guerra, Q.R. y Doperto, J.M. : Análisis de un brote de GET en una granja porcina del estado de Hidalgo, su repercusión en los parámetros productivos y económicos. I Congreso Latinoamericano de Veterinarios Especialistas en Cerdos XIII Convención ANVEC 1977.
- 15.- Guevara, M.R. : Inmunidad a Salmonella cholerae-suis en lechones protegidos con inmunoglobulinas séricas administradas por vía oral. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. UNAM. Méx. 1983.
- 16.- Hartwig, R.V. and Jones, O.D. : Survey for Salmonella in porcine bile and cecums and on equipment surfaces in an Ohio abattoir. J. Am. Vet. Med. Ass. 161 : 1229-1230 (1976).
- 17.- Ishizuro, N., Sato, G., Takeuchi, K. and Nakayama, A. : A longitudinal epidemiological study of Salmonella infection on a piggery : A study on the mode of contamination by biotyping of Salmonella typhimurium and the antibiogram. Jap. J. Vet. Sci. 41 : 261-272 (1979).
- 18.- Jeffcott, L.B. : Passive immunity and its transfer with special reference to the horse. Microbiol. Rev., 47 : 439-464 (1972)
- 19.- Jones, P.W. and Hall, G.A. : Detection of Salmonella infection in pig herds by examination of slurry. Vet. Rec. 97 : 351-352 (1975)
- 20.- Jubb, K.V.F. and Kennedy, C.P. : Patología de los Animales Domésticos Tomo II Editorial UPOME Méx. 1982.
- 21.- Kayser, B. and Ahlsted, S. : Protective capacity of antibodies against Escherichia coli O,K, antigens. Inf. and Immun., 17 : 286-289 (1977).
- 22.- Krepszig, E. : Introducción a la estadística matemática. Principios y Métodos. Edit. Limusa Wiley. 1a. Edición México 1973.
- 23.- Lassen D., Hoffman, L.J., Kaeberete, M.L. and Buck, W.B. : Increased susceptibility of lead exposed swine to Salmonella cholerae-suis var. hinzendorf. Am. J. Vet. Res. 41 : 463-468 (1980).
- 24.- Leary L. H. Jr. and Lecce, G.J. : The preferential transport of immunoglobulin G by the small intestine of the neonatal piglet. J. Nutrition, 109 : 458-466 (1979).

- 25.- Lee, J.A., Grosh, A.C., Mann, P.G. and Tee, G.H. : Salmonellas on pig farms and abattoirs. J. Hyg. Camb., 70 : 141-149 (1978)
- 26.- Lemman, A.D., Glock, R.D., Menzies, W.L., Perry, R.H.C., School, E. and Straus, B. (Editors) : Disease of swine. Fifth Edition. The Iowa state University Press, Ames Iowa, USA 1981.
- 27.- Linton, A.H. : Antibiotic-resistance and public health. Vet. Rec., 100 : 354 (1977)
- 28.- Linton, A.H. : Salmonellosis in pigs. Br. Vet. J., 135 : 109-112 (1979).
- 29.- McCaughey, W.J., McClelland, F.G. and Roddy, R.M. : Salmonella isolations in pigs. Vet. Rec., 92 : 191-194 (1973)
- 30.- Morehouse, L.G. : Salmonellosis in swine and its control. J. Am. Vet. Med. 60 : 593-601 (1972)
- 31.- Morse, E.U. and Swaminathan, B. : Methods for detection of Salmonella in swine, feeds and the environment. National Porks Producers Council. 1 Pork Producers 10 (1981)
- 32.- Myers W and Segre D. : The immunologic behavior of baby pigs. III Transplacental transfer of antibody globulin in swine. J. Immunol., 91 : 697-700 (1963).
- 33.- Newell, W.K. and Williams P.L. : The control of Salmonellae affecting swine and man.
- 34.- Olson, L., Rodabaugh and Morehouse, L.G. : Comparasion of furazolidone and carbadox in the feed for tratament of Salmonella choleraesuis in swine. Am. J. Vet. Res., 38 : 1471-1477 (1977).
- 35.- Pérez y Pérez, G., Tobilla L. y Carboney A. : Incidencia de bacterias enteropatólogicas de la población infantil de la Cd. de México. Rev. de la Fac. de Med., XXVI : 220-229 (1983).
- 36.- Porter, P. : Intestine defence with young pig. Vet. Res., 92 : 685-694 (1973).
- 37.- Quiroz Pérez, J. Olguín, R.F. y Garza, R.J. : Anticuerpos adquiridos pasivamente en relación con mortalidad e incremento de peso de lechones. Vet. Méx. VI : 84-91 (1975).

- ✓ 38.-Redman, D.R. : Prenatal influence on immunocompetence of the neonate. J. Anim. Sci. 49 : 258-265 (1979).
- 39.-Kuiloba, B.J. Ramírez, M.M., y Mata, J.M. : Diarrea en Estudio Shigella, E. coli, o Salmonella ? Atención Médica, Mayo : 48-711 (1981).
- 40.-Shogaard, N. and Brest Nielsen B. : Salmonellus in pigs and animal feeding stuffs in England and Wales and in Denmark. J. Hyg. Camb., 74 : 127-140 (1972).
- 41.-Sojka, W. and Wray, C. : A survey of drug resistance in Salmonellae isolated from animals in England and Wales from 1975 to 1978. Br. Vet. J. 136 : 463-477 (1980).
- 42.-Soulsby, E. J.L. : Antigen-Antibody reactions in helminth infections Adv. Immunol., 2 : 265-303 (1962).
- 43.-Steele, J.H. : Salmonellosis (una delle più importanti zoonosi) Rev. di igiene, profilaxis e terapia 277-285 (1971)
- 44.-Stone, S.S., Stark, S.C. and Philips, M. : Transmissible gastroenteritis virus in neonatal pigs. Intestinal transfer of colostral immunoglobulins containing specific antibodies. Ann. J. Vet. Res., 35: 339-342 (1974).
- 45.-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).
- 46.-Lizard, I.R. : Inmunología Veterinaria. Edit. Interamericana México, 1979.
- 47.-Tomutsl, I.B. Jr. : Studies of secretory immunity. Arch. Biochem and Bioph. 182 : 705-712 (1977).
- 48.-Ibarra, A., Mata, J.M. y García Viveros : Síndrome diarreico. Atención Médica V : 32-41 (1982).
- 49.-Uruchurtu, A., mendez, D., wopoto, J.M., Romero, R.M., López, A.J. y - Sánchez, G.F. : Un estudio sobre mortalidad en lechones en México. Vet. Méx. 7 : 111- 123 (1976).
- 50.-Wilcock, B.P. : Experimental Klebsiella and Salmonella infection in neonatal swine. Can. J. Comp. Med., 43 : 200-206 (1979)

- 51.- Wilcock, B. and Olander, H. : Influence of oral antibiotic feeding on the duration and severity of clinical disease, growth performance and patterns of shedding in swine inoculated with Salmonella typhimurium. J. Am. Vet. Med. Ass., 172 : 472-477 (1978)
- 52.- Wilcock, B. and Olander, H. J. : The pathogenesis of porcine rectal structure. I : The naturally occurring disease and its association with salmonellosis. Vet. Pathol., 14 : 36-42 (1977)
- 53.- William, C.A. and Chase, N.W. (Editors) Methods in immunology and immunochemistry. Third edition, Vol. 11, Academic Press. N.York 1971.

