



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

INMUNIDAD A Salmonella choleraesuis EN
LECHONES PROTEGIDOS CON
INMUNOGLOBULINAS SERICAS
ADMINISTRADAS POR VIA ORAL

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el Título de
Médico Veterinario Zootecnista

P R E S E N T A

Roberto Guevara Mata

Asesores: Dr. Héctor Barbosa Nájera
M. V. Z. Jorge R. López Morales

México, D. F.

1983





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.

INMUNIDAD A Salmonella choleraesuis EN LECHONES
PROTEGIDOS CON INMUNOGLOBULINAS SERICAS ADMINIS-
TRADAS POR VIA ORAL.

I N D I C E

	PAGINA
I). RESUMEN	1
II). INTRODUCCION	3
III). OBJETIVOS	10
IV). MATERIAL Y METODOS	11
V). RESULTADOS	22
VI). DISCUSION	34
VII). CONCLUSIONES	37
VIII). BIBLIOGRAFIA	39

R E S U M E N

Se inocularon cinco cerdos en etapa de finalización, - por cuatro ocasiones con antígenos de Salmonella choleraesuis; las dos primeras con adyuvante completo de Freund y las últimas sin adyuvante, a intervalos de quince días.

Ocho días después del último estímulo antigénico los -- cerdos se sacrificaron en el rastro, se colectó la sangre, se precipitaron las inmunoglobulinas de los sueros con sulfato de amonio a concentración final de 33 %, y fueron dializadas contra solución amortiguadora de fosfatos 0.01 M -- pH 7.5), para eliminar el sulfato de amonio.

A tres camadas experimentales se les administró desde el nacimiento cinco gramos de inmunoglobulinas contra Salmonella choleraesuis, por vía oral diariamente y al séptimo día de vida, dos horas después de la última toma de Igs. se les retó al igual que a tres camadas controles, con 2.1, -- 3.5 y 7.2×10^{11} bacterias; cada dosis en una camada experimental (con Igs.) y una control (sin Igs.).

Los animales experimentales fueron más resistentes al desafío, con el agente patógeno, ya que se enfermaron días después que los controles y sus muertes ocurrieron también posteriormente en porcentaje de 28, 40 y 80 % a las dosis de 2.1, 3.5 y 7.2×10^{11} bacterias respectivamente, los controles mueren en el 100 % de los casos, por lo tanto el por---

ciento de sobrevida en los animales experimentales fué de --
72, 60 y 20 %.

El análisis estadístico, usando la prueba de Fisher, --
señala una P mayor de 0.05 para el grupo de desafío más ba--
jo.

Se concluye que las inmunoglobulinas séricas son capa--
ces de salvar la barrera gástrica e intestinal, e interac--
tuar con los agentes patógenos en la luz intestinal y neu--
tralizarlos impidiendo su actividad patógena. En este caso
se logró proteger lechones contra un desafío con Salmonella
choleraesuis.

I N T R O D U C C I O N

En México existe una gran mortalidad en recién nacidos -- tanto humanos como de otras especies animales, ocasionadas por enfermedades infecciosas gastrointestinales (8,32), propiciadas por el período de inunodeficiencia del recién nacido y las condiciones ambientales predominantes.

Los anticuerpos (Ac) participan en la eliminación de bacterias (16), virus y parásitos (28, 29) de la luz intestinal. En los recién nacidos la mayor parte de los anticuerpos que participan en la defensa de la luz intestinal se reciben en forma pasiva, ya sea a través de la placenta, o -- bien y principalmente, durante la lactancia en el calostro (15, 29). Aparentemente los anticuerpos presentes normalmente en la luz intestinal no son suficientes para el control de desafíos a los que se expone el recién nacido, y los intentos a la fecha que se han realizado para incrementar su concentración inmunizando con antígenos no son completamente exitosos, ya que la inmunidad que se ha logrado en ocasiones estimular es de corta duración (24) porque las células plasmáticas de la pared intestinal son de vida media -- muy corta, (31), o quizá por el desconocimiento de los factores involucrados en la relación huésped-parásito.

Por otra parte, la respuesta sistémica de las madres -- cuando son estimuladas durante la gestación, generalmente -- están dadas por inmunoglobulinas de la clase IgG que se se-

cretan en el calostro pero no con la leche (33) y solamente se han logrado éxitos parciales cuando se estimula inyectando directamente en las glándulas mamarias.

La administración de anticuerpos séricos por vía oral ha resultado en algunas experiencias favorables. En contra de la capacidad desnaturalizadora de proteínas por el jugo gástrico y el medio intestinal se puede intentar dar volúmenes grandes de anticuerpos séricos durante la lactancia tratando de neutralizar la capacidad del pH ácido del estómago y saturar la actividad proteolítica del intestino, de tal manera que se permita la funcionalidad de algunos de los anticuerpos séricos administrados por vía oral.

Esto es factible dado que se puede obtener volúmenes --- grandes de anticuerpos específicos en los rastros cuando se acopla la industria pecuaria con la de antisueros (7).

El disminuir la mortalidad de recién nacidos en especies de interés pecuario dada las pérdidas económicas que reporta, resulta de suma importancia. En el área de porcinos los siguientes datos dan una idea aproximada de la envergadura del problema.

PRODUCCION PORCINA MUNDIAL. En 1979 la población mundial de cerdos fué de 753 millones de cabezas, siendo la distribución en diferentes países de la siguiente manera (6):

PAIS	# DE CABEZAS	ANIM. SACRIFICADOS
1. CHINA	305,612,000	261,000,000
2. URSS	73,484,000	69,000,000
3. USA	60,101,000	88,000,000
4. BRASIL	36,000,000	12,000,000
5. ALEMANIA OCCID.	22,641,000	36,000,000
6. POLONIA	21,224,000	21,000,000
7. MEXICO	16,233,400	15,930,000
8. FRANCIA	11,745,000	20,000,000
9. ALEMANIA OR.	11,734,000	12,000,000
10. RUMANIA	10,337,000	10,000,000

PRODUCCION PORCINA NACIONAL. La industria porcina ha sido una de las actividades pecuarias más desarrolladas durante los años setentas, pues la producción registró un incremento anual del 5.1 % debido principalmente al establecimiento de explotaciones tecnificadas y semitecnificadas que contribuyen con el 60 % de la producción nacional (4).

En 1980 la producción de carne de cerdo en canal en el país fué de 1,250,800 toneladas, de carne de res 1,065,000 ton. y de carne de ave 429,059 ton. (3). Tomando en cuenta que en 1980, con 16,890,000 cerdos se sacrificaron 17,058,300 cerdos, esto representa el 101 % de tasa de extracción (9).

CONSUMO PER-CAPITA DE CARNE DE CERDO. La carne de cerdo es la que más se consume en el país, en 1979 el consumo per-ca

pita fué de 17.16 kg de carne de cerdo, comparado con 15.96 kg de carne de bovino, 5.31 kg de carne de ave, 0.43 kg de carne de caprino y 0.32 kg de carne de ovino (26).

Aunque el consumo de carne de cerdo es el más alto en el país, es bajo si se compara con el consumo de otros países como Dinamarca que en 1981 fué 56.2 kg seguido por Alemania Occidental con 51 kg, Austria con 48 kg (5). Esto nos indica que la dieta del mexicano es pobre en proteína de origen animal, lo cual hay que combatir para lograr que lleguen éstos productos en mayor cantidad y calidad al consumidor.

ASPECTOS DE LA MORTALIDAD DE LECHONES.

La mortalidad durante la lactancia es muy variable dependiendo, entre otros factores, del grado de tecnificación de una granja y de las medidas higiénicas que se desarrollen en las mismas.

Uruchurtu y colaboradores reportan un promedio de mortalidad del 25 % (32), en Holanda la mortalidad de lechones va de 12-20 % (23), en Estados Unidos hasta un 37 % en razas Duroc y Hampshire (23), en Inglaterra 14 % (11).

Hay que tomar en cuenta que la habilidad del lechón para sobrevivir depende altamente de su peso al nacer, del tamaño de la camada y de la capacidad lechera de la marrana.

Con respecto a lo primero, investigadores Polacos reportan un 95.2 % de mortalidad en lechones que pesaron 0.5-1 kg, 14.7 % en lechones entre 1-1.5 kg y solamente un 5.4 % para aquéllos que pesaron 1.5-2 kg; encontraron que la causa principal de su muerte fué por enfriamiento al no poder mantener su temperatura corporal (2), por tener una superficie mayor de radiación en relación a su peso y debido a eso, mayor pérdida de calor y energía, aunado a que son débiles para mamar el calostro necesario, y/o son desplazados por los lechones pesados (18). La más alta mortalidad ocurre durante los primeros cuatro días de vida y disminuye conforme crecen los lechones (18, 20).

Uruchurtu y col. reportan como causas de mortalidad en lechones de la Granja Experimental Porcina de la Facultad -

de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM., procesos infecciosos en el 80 % de los casos. La salmonelosis representa el 2.5 % de ellos. De ochenta necropsias de lechones de diferente procedencia, 78.75 % murieron por causa infecciosa, los casos de salmonelosis representan el 3.17 % (32); Así mismo el Departamento de Patología de la FMVZ, UNAM., reporta que en 1975, de 84 casos el 97.65 % murieron por problemas infecciosos, y de ellos el 6.09 % es por salmonelosis -- (12); en 1976 de 167 necropsias, el 92.81 % murieron de causa infecciosa y de ellos el 1.93 % de salmonelosis (13).

Por su parte el Departamento de Producción Animal: Cerdos de la FMVZ, UNAM., reporta que de Enero de 1981 a Mayo de 1982 estudió 224 casos, de los cuales el 86.6 % murieron de causa infecciosa y de ellos el 4.6 % por salmonelosis -- (22).

En promedio tenemos que el 87.15 % de las muertes en cerdos es por procesos infecciosos de los cuales el 3.65 % corresponde a salmonelosis. Este dato es más alto que el reportado como frecuencia de Salmonella en otros animales domésticos cuya frecuencia se calcula de 1-3 % (1).

Aunque estos datos son pobres y regionalizados, sirven para dar una idea de la magnitud del problema, aunque definitivamente se necesitan estudios más extensos para tener un valor real del problema en todo el país.

POSIBLES PERDIDAS ECONOMICAS POR ENFERMEDADES
INFECCIOSAS Y POR SALMONELOSIS.

Ahora bien, si se sacrificaron durante 1980, 17,058,300 cerdos (9), tomando en cuenta una mortalidad promedio de -- 25 % en etapa de lactancia, murieron aproximadamente 5,686,100 cerdos, si de estos el 87.15 % fueron por causa infecciosa, murieron por lo tanto 4,955,436 lechones, que si se hubieran engordado en 95 kg promedio al rastro, hay una pérdida de 470,766.42 toneladas de carne que multiplicados por \$ 82.00 kg en pie (Ferreria-October de 1982) hay una pérdida anual de \$ 38,602,846,440.00 .

Por otro lado según los mismos estudios el 3.65 % corresponde a salmonelosis, muriendo 180,873 cerdos lo que -- significa una pérdida de 17,182.93 ton. de carne que representa una pérdida probable de \$ 1,409,000,670.00 anuales. A estos datos hay que añadir los gastos representados por tratamientos, retrasos en la eficiencia alimenticia, así como aumento en el manejo y mano de obra, entre otras.

Con estos cálculos sólo se pretende tener una noción de cuanta carne de cerdo se puede aportar a la población con -- sólo reducir la mortalidad por enfermedades infecciosas.

O B J E T I V O S

- I). Estudiar si la administración por vía oral de inmunoglobulinas séricas (principalmente IgG específica contra Salmonella choleraesuis) en lechones, suplementando la lactancia, son capaces de salvar la barrera gastrointestinal, permanecer en la luz intestinal e interactuar con el agente patógeno evitando el daño ocasionado por éste.

- II). Investigar el grado de protección conferida - por una dosis constante de anticuerpos séricos administrados en forma suplementaria a la lactancia.

- III). Aumentar la producción de lechones al destete, al disminuir la mortalidad por enfermedades - infecciosas gastrointestinales en los recién nacidos.

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

DISEÑO EXPERIMENTAL

A tres de las seis camadas de lechones se les administró desde el nacimiento cinco gramos de inmunoglobulinas por -- vía oral diariamente en una toma y al séptimo día de vida, dos horas después de la última toma, se les retó vía oral - al igual que las tres camadas controles, con diferentes dosis de Salmonella choleraesuis.

Fueron vigilados los días posteriores y los datos de enfermedad y muerte registrados en los veinticinco días siguientes al desafío, se tomaron muestras para coprocultivo y hemocultivo de los animales enfermos y se practicó la necropsia de los animales que murieron.

D I S E Ñ O E X P E R I M E N T A L

DIAS DESPUES DE NACIDOS

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25

DOSIS DE RETO	CAMADA #	EVENTOS	
0.1 LD ₅₀	Experimental 1	* * * * *	* D
	Control 2	- - - - -	D
Registro de animales enfermos y muertos después del desafío.			
1 LD ₅₀	Experimental 3	* * * * *	* D
	Control 4	- - - - -	D
"			
10 LD ₅₀	Experimental 5	* * * * *	* D
	Control 6	- - - - -	D
"			

* Administración de las inmunoglobulinas vía oral.

D Desafío a los lechones.

ANIMALES

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 obtener antisueros específicos. Se inmunizaron en cuatro ocasiones con intervalos de quince días; Las dos primeras inmunizaciones fueron administradas con adyuvante completo -de Freund (ACF), volúmen a volúmen, por vía subcutánea en la oreja 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.

Seis camadas de lechones híbridos Hampshire-Duroc fueron utilizados para el reto. Diez días antes del parto las madres fueron trasladadas de la Granja Experimental Porcina al Departamento de Cerdos de la FMVZ, UNAM. Se colocaron en aislamientos previamente desinfectados con jabón y vapor a presión, luego con fenol sintético (Ambietrol- -- Squibb) y finalmente con gases de formaldehído (Baker) y permanganato de potasio (Baker).

Se atendieron los partos, se mantuvieron los cerdos en lechoneras con fuentes de calor. Al tercer día, a cada lechón se le inyectaron dos centímetros cúbicos de hierro dextrán (Dexirón 100, Lab. Norden) por vía intramuscular.

Se permitió una lactancia ad-libitum y a los quince días se inició alimentación sólida con preiniciación. A las cerdas se les proporcionó alimento de lactante de acuerdo al tamaño de la camada.

OBTENCION DE LAS INMUNOGLOBULINAS

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 coagulo, el suero fué separado por decantación y centrifugado a 1,500 revoluciones por minuto (RPM) durante quince minutos 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 al suero, manteniendola en agitación, una solución saturada de sulfato de amonio (pH 8.0) en un volumen que sea la mitad del suero usado, hecha la mezcla se centrifuga a 6,000 RPM durante veinte minutos a 4° C, se elimina el sobrenadante y se resuspende el precipitado en agua destilada, volviendo a agregar la solución saturada de sulfato de amonio, y de nuevo se centrifuga, esto se repite ---

hasta que el sobrenadante sea transparente. El precipitado se resuspende en solución salina amortiguada con fosfatos 0.01 M, pH 7.4 (PBS), para después ser dializadas contra la misma solución para eliminar el sulfato de amonio. Posteriormente se conservaron congeladas hasta su uso en los lechones experimentales.

DETERMINACION DEL TITULO DE ANTICUERPOS PRODUCIDOS

Ocho días después de cada inoculación del antígeno, se sangraron los cerdos adultos para determinar el nivel de anticuerpos producidos. Se obtuvieron aproximadamente --- quince mililitros de sangre de la vena marginal de la oreja, se deja reposar en refrigeración a 4° C posteriormente se elimina el coagulo y se centrifuga a 2,000 RPM durante quince minutos para separar el suero. Del mismo modo se usaron las Igs. obtenidas del sangrado final para comprobar su funcionalidad. Previo a esto se cultivó la bacteria y luego se suspendieron en solución salina isotónica, se hicieron diluciones dobles seriadas al suero obtenido al igual que las Igs. con PBS. Mezclando una gota del suero obtenido y una gota del antígeno (Salmonella) - se hizo una prueba de aglutinación directa, el valor recíproco de la dilución más alta capaz de dar una reacción positiva se llama título del suero y constituye un indicio de la cantidad de anticuerpos presentes.

También se realizó la prueba de inmunoelectroforesis, para lo cual se realizó la electroforesis de la mezcla de antígenos en gel de agar al 1 % (Sigma) utilizando una so

lución amortiguadora de barbituratos 0.05 M, pH 8.6, durante dos horas con 1.5 miliampers por placa, luego se corta un canal en el agar, donde se coloca el antisuero y se le permite difundir durante veinticuatro horas a temperatura ambiente. Para eliminar el exceso de reactantes que no participaron en la reacción Ag-Ac, las placas se colocaron en solución salina 0.85 %, pH 7.4, realizándose tres cambios de la solución cada veinticuatro horas, dejándose posteriormente en agua destilada una o dos horas.

Para su tinción, se secan las placas con papel filtro y se tiñe con solución de negro de amido (Sigma) al 1 % - durante quince minutos, se retira el exceso de colorante con agua destilada y después con ácido acético al 10 % (35).

ANTIGENOS

BACTERIA. La cepa de Salmonella choleraesuis fué donada -- gentilmente por el Dr. José López Alvarez, Jefe del Departamento de Microbiología de la FMVZ, UNAM.

Los antígenos fueron obtenidos de acuerdo al método descrito por Tato y colaboradores (30) que brevemente describimos: Se sembró una pequeña cantidad de bacterias en cincuenta mililitros de caldo soya tripticasa incubando toda la -- noche a 37° C; se resembró en siete litros de caldo soya -- tripticasa el cual se incubó a 37° C por cuatro horas.

Las células fueron cosechadas por centrifugación a ----- 16,000 g durante quince minutos a 4° C en una centrífuga -- Sorvall RC-2B. Las células fueron resuspendidas en acetona fría previamente deshidratada con cloruro de calcio. La suspensión fué agitada por diez minutos y filtrada posteriormente a través de un filtro de vidrio usando una bomba de -- vacío, este paso fué repetido dos veces. Finalmente las células fueron lavadas con cloroformo frío de la misma manera. El polvo fué dejado por cuarentaiocho horas en una cámara -- de vacío para evaporar los residuos de cloroformo.

El polvo bacteriano fué resuspendido en una solución -- amortiguadora de fosfatos 0.01 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. Desoxirribonucleasa fué agregada a concentración final de 20 µg/ml. Después de una hora de -- incubación a 38° C en agitación constante, el material fué dializado durante tres días con cambios frecuentes de solu-

ción 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 fué centrifugada a 36,000 g durante quince minutos a 4° C, este producto final se utilizó para inmunizar a los cerdos adultos (30).

PREPARACION DEL CULTIVO PARA EL DESAFIO DE LECHONES

Se cultivó Salmonella choleraesuis en cincuenta mililitros de caldo soya tripticasa, incubando en agitación por cuatro horas a 37° C. Se resembró en cajas de petri para cultivo conteniendo medio sólido con caldo soya 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 (Carl Zeiss Mod. PMQ-II) a una longitud de onda de 550 nanómetros. Se conoce que una densidad de 0.2 comprende aproximadamente a 10^8 bacterias. El número de bacterias viables fué determinado sembrando diferentes diluciones en cajas de petri conteniendo el mismo medio de soya, las cajas se dejaron incubar toda la noche para contar al día siguiente el número de colonias.

AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE LA Salmonella
EN LOS ANIMALES INFECTADOS.

De los animales desafiados con los cultivos de Salmone-
lla que presentaron la signología clínica de la enferme-
dad se procedió a aislar la bacteria realizando hemoculti-
vos y coprocultivos para confirmar el agente étológico -
de la enfermedad, asimismo se practicó la necropsia al mo-
mento de la muerte.

COPROCULTIVO. Se tomaron muestreos rectales con hisopos
estériles a los lechones que presentaron diarrea, los hi-
sopos se mantuvieron sumergidos en tubos conteniendo cal-
do tetracionato, los cuales se incubaron por veinticuatro
horas a 37° C, posteriormente se sembraron en medio sóli-
do de agar Salmonella-Shigella, se incubaron las placas -
por veinticuatro horas a 37° C. La identificación de la -
Salmonella se hizo por pruebas bioquímicas, las que se --
realizaron con las siguientes:

descarboxilación de la lisina.	cittrato.
fermentación de la glucosa.	malonato.
fermentación de la lactosa.	urea.
producción de gas.	rojo de metilo.
formación de indol.	Voges Proskauer.
licuefacción de la gelatina.	movilidad.
producción de ácido sulfídrico.	

HEMOCULTIVO. Se tomaron muestras de sangre de la vena yugular con jeringas estériles, se procedió a sembrar en placas sólidas para poder identificar la Salmonella por las pruebas bioquímicas ya descritas.

ADYUVANTE

Se utilizó adyuvante completo de Freund para inmunizar los cerdos adultos. Se preparó mezclando ochentaicinco -- partes de aceite mineral con quince 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. (14).

SOLUCION SALINA AMORTIGUADA CON FOSFATOS (PBS)

El PBS se prepara a partir de:

fosfato de sodio monobásico 0.2 M (NaH_2PO_4) (Baker)	19.5 ml.
fosfato de sodio dibásico 0.2 M (Na_2HPO_4) (Baker)	30.5 ml.
cloruro de sodio (NaCl) (Baker)	7.4 g.
agua destilada	c.b.p. 1000 ml

(35).

R E S U L T A D O S

ANIMALES

Las camadas fueron poco numerosas probablemente por ser cerdas primerizas, pero con buen peso al nacimiento lo que les permitió desarrollarse sanos hasta el día del desafío.

Los lechones que soportaron el desafío continuaron en observación hasta que terminó su lactación momento en que se sacrificaron. Las marranas en ningún caso mostraron signos de infección a partir de los lechones enfermos, y al término de la lactancia se desecharon para el abasto.

PRODUCCION DEL ANTISUERO

Los animales adultos destinados a la obtención del antisuero, respondieron adecuadamente al proceso de inmunización sin alteración en la ganancia de peso como se muestra claramente en el cuadro número uno donde se comparan con el lote control que no fué inmunizado. Esto mismo se puede observar en la figura número uno donde se grafican los datos individuales haciendo una relación entre el peso inicial y el peso final y se encuentra que todos los puntos caen cerca de una recta de regresión lineal. Como se observa, ambos lotes de cerdos llegaron al peso adecuado en la edad para su salida al mercado.

DETERMINACION DEL TITULO DE ANTICUERPOS

Las inmunoglobulinas obtenidas de los cerdos inmunizados tuvieron un título de 1:1024 cuando fueron probadas 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 cuatro donde se puede observar también que el antígeno está constituido por una gran población de moléculas ya que se pueden observar aproximadamente ocho sistemas antígeno-anticuerpo.

AISLAMIENTO DE LA Salmonella

Los hemocultivos y coprocultivos realizados fueron positivos en el 80 % y 90 % respectivamente, lográndose identificar bioquímicamente la cepa utilizada para el desafío, los resultados de las pruebas bioquímicas fueron las siguientes:

descarboxilación de la lisina	positivo
fermentación de la glucosa	positivo
fermentación de la lactosa	negativo
producción de gas	positivo
formación de indol	negativo
licuefacción de la gelatina	negativo

producción de ácido sulfídrico	positivo
citrato	negativo
malonato	negativo
urea	negativo
rojo de metilo	positivo
Voges Proskauer	negativo
movilidad	positivo

DESAFIO A LAS CAMADAS CON LA CEPA DE Salmonella choleraesuis

Las dosis de desafío no resultaron las deseables debido a falla técnica, y el número de bacterias viables -- (Unidades Formadoras de Colonias-UFC) fué de 2.1, 3.5 y - 7.2×10^{11} bacterias. Sin embargo a pesar de ser diluciones seriadas 1:2, se pudieron observar diferencias significativas entre las distintas dosis. Los animales experimentales fueron más resistentes al desafío con el agente patógeno, ya que se enfermaron días después que los controles y sus muertes ocurrieron también posteriormente y en menor número que a los animales controles como se muestra en la gráfica número dos.

El porcentaje de sobrevivencia en los animales experimentales varió de acuerdo a la dosis de Salmonella empleada, - observándose desde un 20 % en los animales retados con la dosis más alta y hasta un 72 % en la dosis menor, la sobrevivencia de los testigos fué de 0 % como se observa en la gráfica número tres.

Antes del desafío ocurrieron algunas bajas debido a diversas causas, principalmente: Aplastamientos, hipoglicemia y frío. En los cuadros número dos, tres y cuatro se esquematiza cómo ocurrieron las muertes de los lechones después -- del desafío con el agente patógeno. Los lechones testigo de las camadas desafiadas con 7.1 y 3.5×10^{11} bacterias. presentaron diarrea al segundo día después del reto. En la camada desafiada con 2.1×10^{11} bacterias, el período de incubación fué más prolongado, catorce días en promedio.

El período de incubación de los animales experimentales fué de uno o dos días mayor que en los controles. Algunos animales presentaron la forma septicémica de la enfermedad y murieron sin presentar diarrea, la severidad de la diarrea fué mayor en los animales controles. Las muertes se presentaron así mismo más tempranamente en el grupo control que en el experimental.

# ANIM.	PRIMER ESTIMULO	SEGUNDO ESTIMULO	TERCER ESTIMULO	CUARTO ESTIMULO					
	PESO Kg	EDAD DIAS	PESO Kg	EDAD DIAS	PESO Kg	EDAD DIAS	PESO Kg	EDAD DIAS	
GRUPO EXPERIMENTAL	1	72	145	90	159	94	173	109	191
	2	67	145	85	159	95	173	109	191
	3	72	144	88	158	94	172	107	190
	4	39	140	63	154	74	168	90	186
	5	62	136	81	150	91	164	106	182
\bar{X}	62.4	142	81.4	156	89.6	170	104.2	188	
# ANIM.	PESO Kg	EDAD DIAS	PESO Kg	EDAD DIAS	PESO Kg	EDAD DIAS	PESO Kg	EDAD DIAS	
GRUPO CONTROL	1	66	140	78	161	96	180	101	194
	2	65	129	85	150	104	169	114	183
	3	55	129	69	150	87	169	92	183
	4	57	129	66	150	83	169	94	183
	5	52	129	65	150	85	169	97	183
\bar{X}	59	131.2	72.6	152.2	91	171.2	99.6	185.2	

CUADRO # 1. Edades y pesos de los cerdos adultos utilizados para la obtención de suero anti Salmone-lla choleraesuis, los dos grupos alcanzaron a la edad estimada, el peso deseado para el sacrificio.

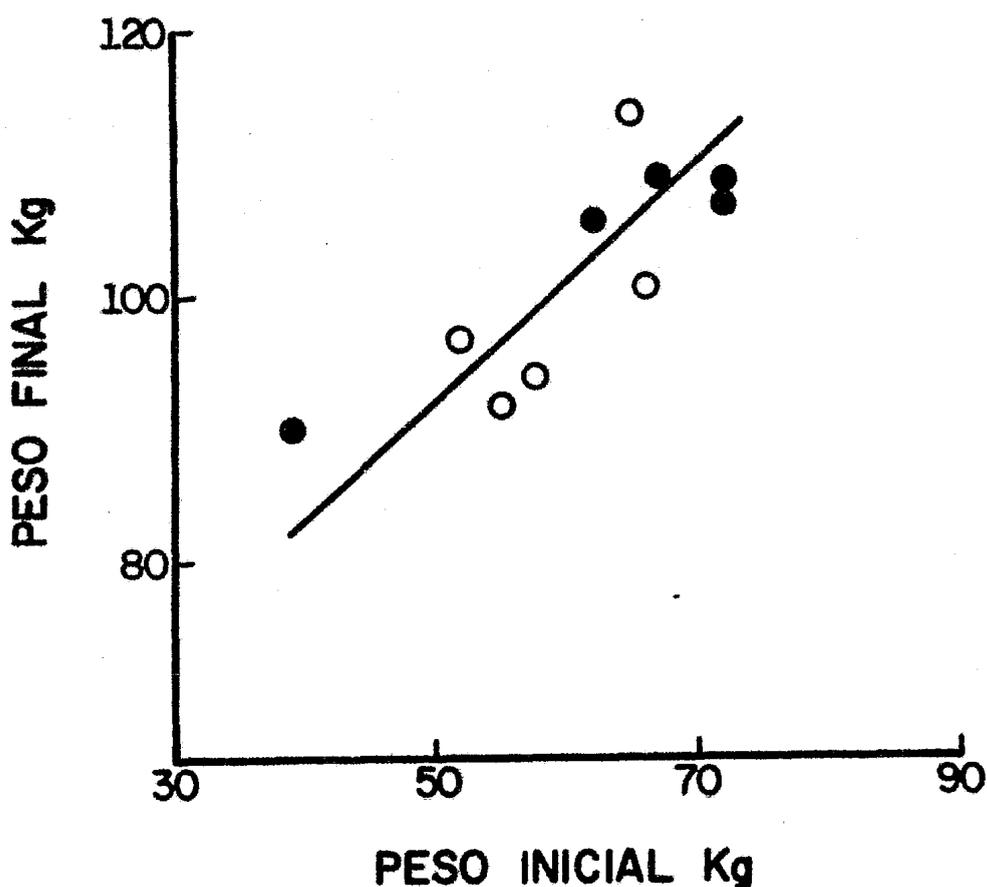


FIGURA # 1. Gráfica que muestra que el peso final de los cerdos experimentales al igual que el de los controles, está en relación directa con el peso inicial. Los círculos vacíos (○) corresponden a los animales controles y los círculos completos (●) corresponden a los animales experimentales. Todos caen cerca a la recta de regresión lineal.

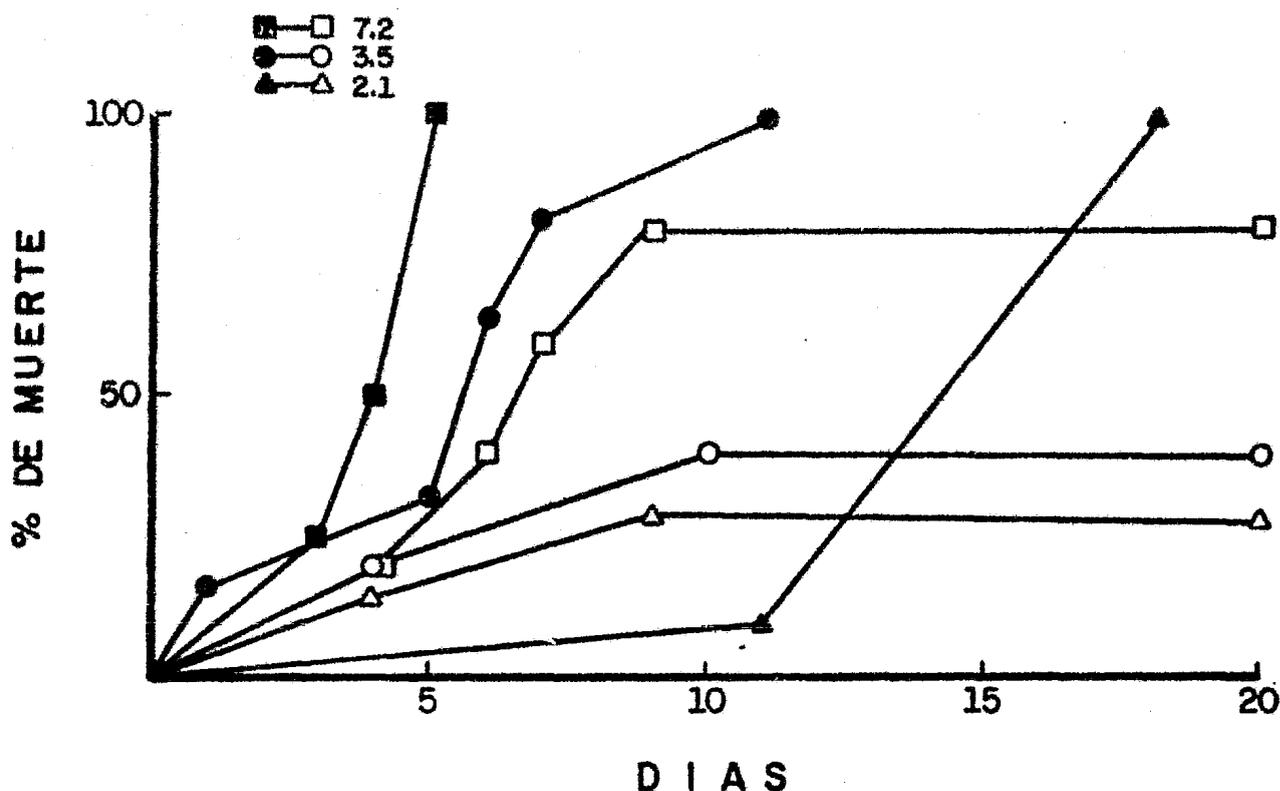


FIGURA # 2. Porciento de muerte de los lechones desafiados con Salmonella choleraesuis a dosis de 2.1, 3.5 y 7.2×10^{11} bacterias. Los animales controles están graficados con figuras llenas y los experimentales con figuras vacías. Como se puede observar la cinética de muerte (pendiente de las curvas) varía de acuerdo a las dosis de Salmonella empleada. Los controles mueren en el 100 %, mientras que los experimentales registran promedios de muerte de 28, 40 y 80 %.

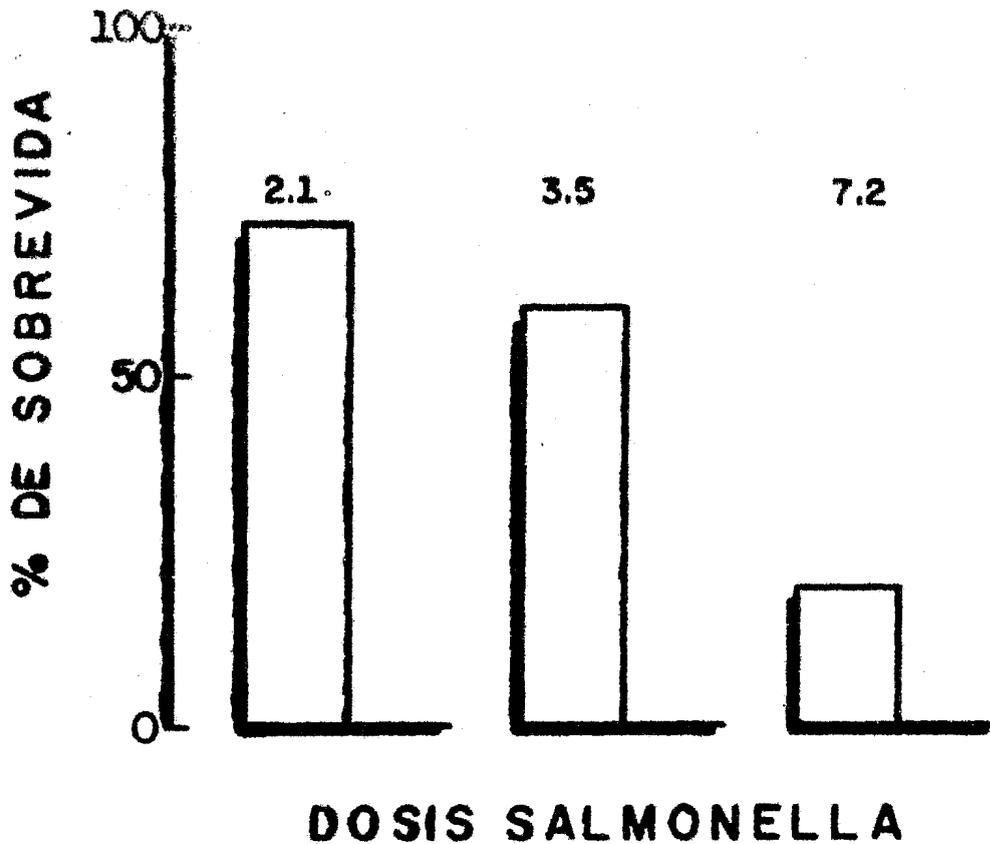


FIGURA # 3. Porcentaje de supervivencia de los lechones que recibieron inmunoglobulinas contra Salmonella choleraesuis después del desafío con 2.1, 3.5 y 7.2 X 10¹¹ bacterias.

Como se puede observar el 100 % de los animales testigo mueren mientras que los experimentales sobreviven en 72, 60 y 20 % de acuerdo a la dosis de desafío.

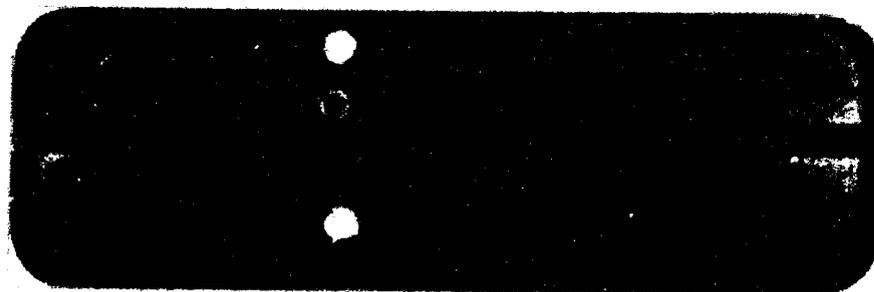


FIGURA # 4.. Inmunelectroforesis del antígeno de Salmonella choleraesuis en los pozos (30 μ l de volúmen a una concentración de 10 μ g/ml) y en el canal -- las inmunoglobulinas (200 μ l de vol. a una concentración de 400 μ g/ml) de los cerdos immunizados contra el Ag.
Obcervese las diferentes bandas de difusión, -- las cuales manifiestan la complejidad del Ag.

DOSIS DEL AGENTE PATOGENO: 7.2×10^{11} BACTERIAS

DIAS DE NACIDOS

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	
LECHON #	1	*	*	*	*	*	*	*	D	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
	2	*	*	*	*	*	*	*	D	*	*	*	*	*	*	*	*	M												
GRUPO	3	*	*	*	*	*	*	*	D	*	*	*	*	*	M															
EXPERIM.	4	*	*	*	*	*	*	*	D	*	d	d	M																	
	5	*	*	*	*	*	*	*	D	*	*	*	*	*	*	M														
	1	*	*	*	*	*	*	*	D	*	d	d	M																	
GRUPO	2	*	*	*	*	*	*	*	D	*	d	d	d	M																
CONTROL	3	*	*	*	*	*	*	*	D	*	d	M																		
	4	*	*	*	*	*	*	*	D	*	d	d	d	M																

D. DESAFIO
M. MUERTE
d. DIARREA

CUADRO # 2. De los lechones experimentales sólo uno mostró diarrea, muriendo el 80 %. los animales controles murieron todos (100 %) después de dos o tres días de diarrea severa. Notece que la diarrea empezó al segundo día después del desafío y que mueren más pronto que los experimentales.

DOSIS DEL AGENTE PATOGENO: 3.5×10^{11} BACTERIAS

DIAS DE NACIDOS

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	
LECHON #	1	*	*	*	*	*	*	*	D	*	*	d	d	*	*	*	*	*	d	d	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
	2	*	*	*	*	*	*	*	D	*	*	d	d	*	*	*	*	*	d	d	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
GRUPO	3	*	*	*	*	*	*	*	D	d	d	d	M																	
EXPERIM.	4	*	*	*	*	*	*	*	D	*	*	d	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
	5	*	*	*	*	*	*	*	D	*	*	d	*	*	*	*	*	*	d	M										
	1	*	*	*	*	*	*	*	D	*	d	d	d	*	*	*	*	*	*	*	*	M								
	2	*	*	*	*	*	*	*	D	*	d	d	d	d	M															
GRUPO	3	*	*	*	*	*	*	*	D	*	d	d	d	*	*	M														
CONTROL	4	*	*	*	*	*	*	*	D	M																				
	5	*	*	*	*	*	*	*	D	*	d	d	*	M																
	6	*	*	*	*	*	*	*	D	*	d	d	*	*	M															

D. DESAFIO
M. MUERTE
d. DIARREA

CUADRO # 3. Los animales experimentales mueren en un 40 %, la diarrea se manifestó al tercer día del desafío, excepto uno que la mostró al siguiente día de desafío. Los controles tuvieron diarrea al segundo día después del desafío, algunos lechones aparentemente sanaron, pero todos murieron (100 %).

DOSIS DEL AGENTE PATOGENO: 2.1×10^{11} BACTERIAS

DIAS DE NACIDOS

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	
LECHON #	1	*	*	*	*	*	*	D	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
	2	*	*	*	*	*	*	D	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
GRUPO	3	*	*	*	*	*	*	D	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
EXPERIM.	4	*	*	*	*	*	*	D	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
	5	*	*	*	*	*	*	D	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
	6	*	*	*	*	*	*	D	*	*	*	M																		
	7	*	*	*	*	*	*	D	*	*	*	*	*	d	d	d	M													
	1	*	*	*	*	*	*	*	*	*	D	*	*	*	d	d	*	*	*	*	*	*	M							
GRUPO	2	*	*	*	*	*	*	*	*	*	D	*	*	*	d	d	*	*	*	*	*	*	*	*	*	d	d	d	d	M
CONTROL	3	*	*	*	*	*	*	*	*	*	D	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	d	d	d	d	M
	4	*	*	*	*	*	*	*	*	*	D	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	d	d	d	d	M
	5	*	*	*	*	*	*	*	*	*	D	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	d	d	d	d	M

CUADRO # 4. El desafio se realizo a diferentes edades en los lechones del grupo control y experimental debido a que la fecha de parto fue diferente, pero el desafio se realizo el mismo dia con el mismo lote de bacterias.

De los experimentales murio el 28 % y solo un lechon presento diarrea antes de morir. Los controles mostraron diarrea severa antes de morir todos (100 %).

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 ésta industria, en la elaboración de antisueros específicos. Como se muestra en el cuadro número uno, no se modifica el incremento de peso registrado en los animales experimentales comparativamente al registrado en el lote testigo, esto significa que el acoplar la industria de producción de carne con la de producción de antisueros resulta benéfica ya que se aprovecha un material de desecho, y la producción de carne no se lesiona ni en cantidad ni en calidad, puesto 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 aglutinante y precipitante está de acuerdo con la capacidad protectora que mostraron en el lumen intestinal de los recién nacidos.

Es interesante notar que los resultados encontrados -- están de acuerdo con experiencias previas en los que se demostró que la suplementación de la lactancia con suero o inmunoglobulinas permite un mayor desarrollo de los lechones. (17, 25).

Asímismo el desafío de los recién nacidos después de la administración de inmunoglobulinas muestra que:

a). La aparición de la enfermedad está en relación directa con la dosis de reto, y lo cual apoya indirectamente la idea de que dosis pequeñas de Salmonella necesita un período de desarrollo en las células del epitelio intestinal antes de causar septicemia, sin embargo hay que tomar en consideración que la DL_{50} reportada por algunos autores es de 10^6 a 10^{11} bacterias (19) y que la dosis administrada por nosotros fué mayor a 2.1×10^{11} la más baja, ya que causaron un 100 % de muerte en los animales controlados. Este hecho, la muerte de todos los controles y que los experimentales sobrevivan dependiendo de la dosis de reto, permite afirmar que la protección lograda es específica y a través de las inmunoglobulinas administradas.

b). Los anticuerpos séricos pueden salvar la barrera gastrointestinal, Probablemente la presencia de leche ayuda a amortiguar el pH ácido del estómago y la gran cantidad de inmunoglobulinas administradas permite saturar la actividad proteolítica del intestino por lo que algunas moléculas quedan funcionales en el lumen intestinal lo que se comprueba por la protección lograda. Dado que el sistema de producción de Igs. específicas permite la obtención de cantidades enormes, no es una limitante en cuanto a la suplementación de la lactancia y probablemente no es necesario administrar la cantidad enorme que nosotros utilizamos.

c). Las dosis de reto fueron tan grandes que el 100 % de los controles murieron y los experimentales resultaron afectados a tal grado que no permiten ver (aunque es clara la protección) una diferencia estadísticamente significativa, excepto en el grupo que recibió la dosis menor, en el que la prueba de Fisher (27) y la de χ^2 (ji-cuadrada) (34) señalan una P mayor de 0.05 . Seguramente dosis menores de reto hubieran permitido visualizar P -- mayores.

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

Los resultados demuestran fehacientemente que la administración por vía oral, de inmunoglobulinas séricas (principalmente IgG) específicas contra Salmonella choleraesuis, en -- lechones suplementando la lactancia; son capaces de salvar la barrera gastrointestinal, permanecer en la luz intestinal e -- interactuar con el agente patógeno neutralizando la capacidad patógena del mismo.

El grado de protección conferida no se pudo estimar con -- precisión, dado que todos los animales controles murieron, -- por lo cual no se pudo precisar la DL_{50} , con éstos resultados únicamente se puede decir que la protección conferida fué mayor de 2 DL_{50} , dado que aún los animales desafiados con la -- dosis más baja de bacterias 2.1×10^{11} , murieron en un 100 % (mínimo se necesitan 2 DL_{50} para matar al 100 % de los animales retados).

Se puede aventurar el presumir que las enfermedades in-- fecciosas gastrointestinales en los recién nacidos se pueden controlar con la administración por vía oral de anticuerpos -- específicos, esto permitirá una mayor eficiencia en la industria pecuaria aumentando la producción de lechones al destete.

Por otro lado, la seroprofilaxis ayuda a contrarrestar -- la quimioterapia utilizada en el tratamiento y control de las

enfermedades infecciosas, que resulta con un costo muy elevado amén de favorecer la resistencia observada cada vez con -- mayor frecuencia y el consecuente peligro de productos cárnicos para consumo humano conteniendo antibióticos (10, 21).

B I B L I O G R A F I A

1. Acha, N.P. y Szyfres, B.: Zoonosis y enfermedades trans-
misibles comunes al hombre y a los animales.
Organización Mundial de la Salud. Organización Panameri-
cana de la Salud. Publicación científica No 354, Was-
hington, D.C. EUA. 1977.
2. Anónimo: Aumentando la eficacia de la cerda. Industria
Porcina., 1 (4): 4 (1981).
3. Anónimo: Buen año para la porcicultura. Síntesis Porci-
na., 2: 6-7 (1981).
4. Anónimo: Dieciséis millones de puercos al año. Síntesis
Porcina., 1 (5): 25 (1982).
5. Anónimo: Donde la demanda de puerco está creciendo. In-
dustria Porcina., 2 (5): 16-18 (1982).
6. Anuario estadístico de producción. Organización de las
Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación -
FAO, 1979.
7. Barbosa, H., Ravines, J., Garza, J. y Larralde, C.: ---
Producción masiva de antitoxina tetánica en cerdos. Tec.
Pecuaria en México., 41: 42-51 (1981).
8. Bryant, j.: Health and the Developing World. Cornell Uni-
versity Press. 1969.
9. Dirección General de Economía Agrícola. Secretaría de -
Agricultura y Recursos Hidráulicos. (1980).

10. Edwards, W.A.: Increase in antibiotic resistance. Vet. Rec., 106 (23): 472 (1980).
11. English, P.: ¿ Existe la marrana ideal ?. Síntesis Porcina., 2 : 6-7 (1981).
12. Flores, C.R., y Hano, P.J.M.: Enfermedades diagnosticadas en el Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. Durante el año de 1975. Vet. Méx., VIII: 45-51 (1977).
13. Fuentes, R.M.C., Enríquez, O.J.J., Magnus, C.S. y Zuckerman, F.: Enfermedades diagnosticadas en el Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. Durante el año de 1976 . Vet. Méx., X: 55-63 (1979).
14. Garvey, J.S., Crener, N.E. and Sussdorff, D.H.: Methods in immunology. Third edition, W.A. Benjamin Publishers. Massachusetts, USA, 1977.
15. Jeffcot, L.B.: Passive immunity and its transfer with special reference to the horse. Microbial. Rev., 47: 439-464 (1972).
16. Kaijser, B. and Ahlsted, S.: Protective capacity of antibodies against Escherichia coli O,K. antigens. Inf. and Inmun., 17: 286-289 (1977).
17. Kurczyn, R.G.H.: Efecto en el incremento de peso de los lechones del suero completo y fracciones séricas con alto contenido de albúmina y gamaglobulinas administradas en forma suplementaria al calostro.

- Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM. México, D.F. 1975.
18. Landeros, M.: Mejores y más vigorosas camadas cuidando al recién nacido. Porcivama., VIII (86): 5-8 (1980).
 19. Lemman, A.D., Glock, R.D., Mengeling, W.L., Penny, R.H. C., School, E., and Straus, B. (Editors): Diseases of Swine. Fifth edition, The Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA. 1981.
 20. Litrap, D.Q., Bailey, J.H. y O'Neal, J.: El manejo --- factor clave hasta el destete. Síntesis Porcina., 2: - 15-19 (1981).
 21. Naotaka, I., Makino, S., Sato, G. and Hashimoto, K.: -- Antibiotic resistance and genetic properties of R plasmids in Salmonella isolated of swine origin in Japan. Am. J. Vet. Res., 41 (1): 46-50 (1980).
 22. Peralta, C.: Reporte de los casos clínicos recibidos - en el laboratorio del Departamento de Producción Animal: Cerdos, de la Facultad de Medicina Veterinaria Y Zootecnia, UNAM. Comunicación personal. (1982).
 23. Peter, B.: Más cerdos por camada. Industria Porcina., 1 (4) (1981).
 24. Porter, P.: Intestinal defense with young pig. The vet. Res., 92: 685-694 (1973).
 25. Quiróz, P.J.I., Olgún, 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).

26. Salinas, A.E.: Situación actual y perspectivas de las especies menores (aves y cerdos) y sus productos en la alimentación. XIV Reunión de la Asociación Mexicana de Producción Animal. Universidad Antonio Narro. Saltillo, Coahuila. (1980).
27. Sidney, S.: Estadística no paramétrica. Segunda edición en español, Editorial Trillas, México D.F., 1982.
28. Soulsby, E.J.L.: Antigen-Antibody reactions in helminth infection. Adv. Immunol., 2 265-303 (1962).
29. Stone, S.S., Stark, S.C. and Phillips, M.: Transmissible gastroenteritis virus in neonatal pigs intestinal transfer of calostrual immunoglobulins containing specific antibodies. Am. J. Vet. Res., 35: 339-342 (1974).
30. 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. Microbial. (Inst. Pasteur) -- 130 A: 47-60 (1979).
31. Tomatsi, T.B. Jr.: Studies of secretory immunity. Arch. Biochem. and Bioph., 182: 705-712 (1977).
32. Uruchurtu, A., Mendez, D., Doperto, J.M., Romero, R.M. López, A.J. y Sánchez, G.F.: Un estudio sobre la mortalidad de lechones en México. Vet. Méx., 7: 111-123 (1976).

33. Watson, D.L., Benenell, M.A. and Chaniago, T.D.: -----
Effect of circulating maternally derived antibody of -
the development of a local immune response in the in--
testine of the neonatal pig. Am. J. Vet. Res., 40: 42-
51 (1981).
34. Wayne, W.d.: Bioestadística. Base para el análisis de
las ciencias de la salud. Primera edición, Editorial -
Limusa, México, D.F. 1977.
35. William, C.A. and Chase, M.W. (Editors): Methods in --
Immunology and Immunochemistry. Third edition. Vol II.
Academic Press, New York, 1971.