

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Estudios Superiores "Cuautitlán"

28
20.

"ESTUDIO COMPARATIVO DEL EFECTO DE LA VACUNA CONTRA
EL COLERA PORCINO (CEPA PAV-I) EN CERDOS TRATADOS
Y NO TRATADOS CON ACETATO DE PREDNISOLONA"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A N

JOSE ANTONIO LOPEZ MARTINEZ

MIGUEL JIMENEZ MELO

Director de Tesis MVZ, MS, PhD. ANTONIO MORILLA GONZALEZ

Coasesor académico de Tesis QFB MARCO ANTONIO VEGA LOPEZ

CUAUTITLAN IZCALLI EDO. MEX.

1987



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

INDICE GENERAL

CONTENIDO	Página
INDICE DE TABLAS Y FIGURAS	i
ABREVIATURAS	ii
INTRODUCCION	1
Cólera Porcino	2
Aspectos Clínicos del Cólera Porcino	4
Descripción del Virus	6
Métodos de Diagnóstico	8
Vacunas	10
Respuesta Inmune	13
Inmunosupresión	18
Aspectos Farmacológicos de los Corticosteroides	22
Inmunosupresión por Virus	31
Planteamiento del problema	34
OBJETIVOS	36
Material y Métodos	37
RESULTADOS	44
DISCUSION	68
CONCLUSIONES	73
RESUMEN	76
APENDICE I	78
APENDICE II	79
BIBLIOGRAFIA	80

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Figura 1, estructura del pregnano	22
Figura 2, modo de acción de los glucocorticoides	29
Figura 3, estructura y características químicas del acetato de prednisolona.	30
Tabla 1, diagrama de actividades.....	43
Tabla 2, temperaturas corporales de cerdos.....	51
Tabla 3, incremento promedio de la respuesta intradérmica hacia un mitógeno en cerdos.....	53
Tabla 4, valores absolutos y relativos de las subpoblaciones de leucocitos de cerdos tratados con acetato de prednisolona.....	54
Tabla 5, valores absolutos y relativos de las subpoblaciones de leucocitos de cerdos.....	55
Figura 4, temperaturas corporales de cerdos vacunados.....	56
Figura 5, temperaturas corporales de cerdos.....	57
Figura 6, respuesta intradérmica en cerdos vacunados.....	58
Figura 7, respuesta intradérmica en cerdos	59
Figura 8, valores absolutos de leucocitos totales de cerdos.....	60
Figura 9, valores absolutos y relativos de linfocitos de cerdos.....	61
Figura 10, valores absolutos y relativos de neutrófilos en banda de cerdos..	62
Figura 11, valores absolutos y relativos de neutrófilos segmentados de cerdos.....	63
Figura 12, valores absolutos de neutrófilos totales de cerdos.....	64
Figura 13, valores relativos de neutrófilos totales de cerdos.....	65
Figura 14, valores absolutos y relativos de monocitos de cerdos.....	66
Figura 15, valores absolutos y relativos de eosinófilos de cerdos.....	67

ABREVIATURAS

Cólera Porcino.....	CP
Acetato de prednisolona.....	AP
Vacunación.....	V
Desafío.....	D
Error estándar.....	EE
Intramuscular.....	IM
Corticosteroides.....	CC
Glucocorticoides.....	GC
Sistema nervioso.....	SN
Sistema retículo endotelial.....	SRE
Acido ribonucleico.....	ARN
Acido desoxirribonucleico.....	ADN
Factor de crecimiento de células B.....	BCGF
Interleucina 1.....	II-1
Interleucina 2.....	II-2
Solución amortiguadora de fosfatos.....	PBS

INTRODUCCION

El Cólera Porcino (CP), llamado también Peste Porcina Clásica o Fiebre Porcina, es una enfermedad altamente transmisible, que afecta en forma natural únicamente al cerdo (6,13). Generalmente se presenta en forma aguda, sobreviniendo la muerte en períodos cortos, por lo que constituye la enfermedad que afecta en mayor grado a la porcicultura tanto en el aspecto epizootiológico, como en el aspecto económico ya que las pérdidas sobrevienen por concepto de mortalidad, abortos, retraso de crecimiento, - complicaciones con enfermedades respiratorias y gastroentéricas, así como gastos médicos (9,13,14,19).

El CP es una enfermedad que se puede manifestar en diversas formas y es, a partir de esto, que algunos autores han propuesto clasificaciones según las características clínicas u otros parámetros (19,10,43,46).

Dunne clasificó al CP en 4 formas principales, según la severidad y duración de los signos clínicos (19):

Cólera Porcino Hiperagudo: La muerte ocurre dentro de los primeros 5 días de enfermedad.

Cólera Porcino Agudo: La muerte sobreviene entre los 10 y 20 días de enfermedad.

Cólera Porcino subagudo: Los animales mueren entre los 20 y 30 días posteriores a la infección.

Cólera Porcino Crónico: La enfermedad se extiende hasta más de 30 días, y el animal puede lograr su recuperación, quedando como portador -- del virus.

Algunos autores han tratado de correlacionar esta clasificación con el grado de virulencia de diferentes cepas del virus de CP, dado que se ha observado en aislamientos en brotes de diversos sitios, que las propiedades antigénicas varían entre una cepa y otra (5,16,34); sin embargo, el aspecto virológico del agente del CP Crónico, por ejemplo, aún no ha sido tan bien determinado como el aspecto patológico (16).

Otra clasificación se plantea en base a la forma de presentación de la enfermedad (20,43,46):

- I) Cólera Típico o Clásico
- II) Cólera Atípico:
 - a) Tremor congénito de los lechones.
 - b) Cólera agudo en recién nacido.
 - c) Cólera agudo por contacto con animales vacunados.
 - d) Cólera postvacunal de baja patogenicidad.

ASPECTOS CLINICOS DEL COLERA PORCINO

Patológicamente, el CP es una enfermedad que se desarrolla en 3 etapas principales: reacción aguda temprana, recuperación parcial, período de latencia y muerte; sin embargo, los signos clínicos de la enfermedad pueden ser variados, según la cepa de virus infectante (16).

El CP se caracteriza por una septicemia hemorrágica, infartos en órganos internos, afectando al SN, epitelios vasculares y células del SRE.

Los signos más característicos de esta enfermedad son:

Los cerdos presentan cierta lentitud en sus movimientos; se observa un aumento notable de la temperatura corporal, intensa conjuntivitis, anorexia casi total, vómitos, períodos alternados de constipación o estreñimiento seguidos de una diarrea profusa gris amarillenta, tensión nerviosa caracterizada por una depresión, la cola y las orejas se observan caídas, paresia de la parte trasera, movimientos convulsivos o forzados con tendencia a parálisis. Cuando la fiebre aumenta, se observa frecuentemente una hiperemia de la piel. La congestión cutánea provoca la aparición de ronchas, pudiendo llegar a invadir el hocico, orejas, abdomen y la cara interna de los miembros (7,13,15,16,19,34).

Las lesiones encontradas a la necropsia son (42,43,46):

Hemorragias múltiples con localizaciones diversas: piel, músculos, tejido conjuntivo; en la superficie de los riñones se observa glomerulonefritis hemorrágica con numerosas petequias; miocardio, pulmón, vías respiratorias -

superiores, cerebro, meninges, estómago (gastritis), vejiga, ganglios tumefactos muy congestionados de color rojo-azul o sembrados de pequeños focos hemorrágicos; mucosa de la vejiga, ganglios linfáticos mandibulares, escapulares, inguinales, hepáticos, renales; tonsilas con abscesos y congestión; lesiones hemorrágicas en el intestino grueso, algunas veces acompañadas de inflamaciones pseudo-membranosas de tipo crupal (botones necróticos); inflamación a la altura del bazo, que puede encontrarse infartado - en algunos casos (50).

El endotelio de los vasos capilares revela una degeneración hialina, - la cual es responsable de los procesos hemorrágicos y de la trombosis que provocan los fenómenos de inflamación y necrosis que caracterizan las lesiones observadas en el cerdo afectado de CP (50).

Se ha observado en animales susceptibles que al contraer la enfermedad, el diagnóstico puede hacerse con cierta facilidad, dado que únicamente se observan los signos característicos de la enfermedad. Sin embargo, en animales parcialmente inmunes la detección de la enfermedad se torna - más complicada, ya que los parámetros de diagnóstico observados en estos animales, muchas veces no corresponden a los establecidos para la identificación del CP. Más aún, en algunas ocasiones se puede apreciar que en - animales originalmente afectados por el CP, aparecen lesiones producidas - por otro tipo de agentes infecciosos no relacionados con el virus, como -- bacterias, parásitos, etc. (6,20,34,42).

DESCRIPCION DEL VIRUS

El agente etiológico de la enfermedad es un virus perteneciente a la familia *Togaviridae* y al género *Pestivirus*, el cual presenta las siguientes características:

Morfológicamente, son virus encapsulados, aproximadamente esféricos, con un diámetro de entre 450 - 700 Å; el microscopio electrónico ha permitido detectar la presencia de una membrana externa o cubierta de lipoproteína, con finas proyecciones o espículas glucoproteicas (a las cuales se les atribuyen propiedades hemaglutinantes con hematíes de pollo recién nacido o de ganso adulto), estrechamente adosada a una nucleocápside de 250 - 350 Å, que al parecer presenta una simetría icosaédrica (29).

El genoma de este virus está constituido por una molécula de ARN infeccioso de cadena única, de sentido positivo, con un peso molecular aproximado de 4×10^6 daltons, que constituye un 4 - 8% del peso total del virión (29).

Su replicación la realizan en el citoplasma celular. El ciclo de replicación viral se inicia con la adherencia por medio de receptores; a continuación viene una fase de penetración, desnudación viral, síntesis de proteínas y ARN, y posteriormente ocurre la fase de maduración, la cual se supone que ocurre por gemación a través de membranas intracitoplasmáticas principalmente en el retículo endoplásmico (18,29).

El virus del CP se encuentra antigénicamente relacionado con el resto de los integrantes del género Pestivirus, pero no con miembros de otro género de la misma familia (29).

El virus es activo en sangre desfibrinada por una hora a 60°C, y por 3 días a 50°C. Es resistente a algunos desinfectantes, pero se destruye rápidamente con fenol al 5%. Es sensible al éter, cloroformo y otros solventes de lípidos, así como a la acción de la Tripsina y de la luz solar -- (18,29,30).

El virus del CP se puede multiplicar en cultivos celulares de bazo, riñón, médula ósea, testículo, nódulos linfáticos, células embrionarias de piel y leucocitos de cerdo. *In vivo*, el virus al parecer presenta una alta afinidad y tropismo por las células de tejido linfoide de serie blanca y células endoteliales, provocando con esto leucopenias severas y hemorragias petequiales por todo el organismo (18,29,30).

METODOS DE DIAGNOSTICO

Con la finalidad de obtener una determinación precisa y rápida del CP, han sido propuestas una serie de pruebas de laboratorio, que van desde muy simples hasta algunas muy sofisticadas. Entre otras, se pueden -- mencionar las siguientes (50):

- Conteo de leucocitos totales. Durante el curso de la enfermedad, se observa un decremento gradual en la cantidad de leucocitos o leucopenia, la cual se presenta entre el 2o. y 6o. día de enfermedad (50).
- Reducción de la actividad de amilasa pancreática en cerdos infectados. En lechones se pueden presentar falsos positivos (50).
- Pruebas de precipitación en agar. Identificación de anticuerpos presentes en el suero del animal (35).
- Pruebas de Inmunofluorescencia. Utilizando anticuerpos fluorescentes, -- reacción altamente específica (50).
- Laude (1978) propuso la utilización de la técnica directa en placa para la determinación de la presencia del virus. Esta técnica consiste en la preparación de monocapas con cultivos celulares de riñón de cerdo, sobre las cuales se coloca la muestra y en seguida una sobrecapa con agar (37). Por -- este método se obtiene crecimiento en un período de 2 a 5 días, dependiendo de la virulencia de la cepa de virus. Con este trabajo se demuestran -- las ventajas que ofrece este método sobre otros utilizados con el mismo fin, tales como el ensayo de la exaltación del virus de la enfermedad de Newcastle (método END), o el de la formación inversa de placas (24,38), en cuanto a --

su aplicación para pruebas de seroneutralización, producción de virus de -
Cólera Porcino para estudios genéticos, etc. (37).

VACUNAS

Desde hace casi 2 siglos, cuando en 1792 Jenner desarrolló la obtención de una vacuna que protegía contra la viruela, o en 1885, con el hallazgo de la vacuna contra la rabia por Pasteur, una de las principales metas de los inmunólogos que buscan evitar enfermedades infecciosas ha sido lograr vacunas o toxoides con el fin de inducir una respuesta inmunológica que impida la proliferación del agente infeccioso, bacteriano o vírico, introducido en el organismo. La inmunidad debida a inyección de estos inmunógenos se considera adquirida artificialmente, pues corresponde a una maniobra que realiza el hombre (2,3).

Las vacunas pueden estar constituidas por:

- Elementos microbianos muertos mediante tratamiento físico o químico.
- Extractos microbianos purificados.
- Microorganismos vivos, eventualmente atenuados, de manera que producen una infección muy leve, sin peligro para el huésped; además tienen la ventaja de inducir inmunidad mucho más duradera que las vacunas muertas. Este tipo de vacunas se utilizan sobre todo contra los virus que estimulan sólo a las células T, si les son presentados integrados en la membrana de células vivas, y de manera más general, cuando se desea estimular la inmunidad mediada por células (2).

Algunas vacunas vivas provocan efectos secundarios, generalmente relacionados con la proliferación inoportuna del germen inyectado, en una situación inmunológica deficiente.

Para el caso del CP, en la actualidad se utilizan 2 tipos de vacunas:

- La única vacuna inactivada que recientemente se utilizaba es la de -- cristal violeta, compuesta de sangre virulenta de cerdo desfibrinada, a la - que se le agrega glicerina y cristal violeta. Con esta vacuna, la inmunidad se alcanza lentamente y se completa en 3 semanas. Se deberá aplicar un - refuerzo 2-3 semanas después de la primera inyección (50).

Las vacunas en que se utilizan virus vivos son preparadas a partir de - un virus virulento que ha sido atenuado, ya sea por pases en serie sobre co - nejos (cepa china), o pases alternados en conejos y cerdos, el último pase -- haciéndose sobre cultivos celulares de origen porcino (la cepa vacunal PAV-1 se prepara por pases en cultivos de células PK-15). Estas vacunas procuran una inmunidad más precoz, más sólida y duradera que las vacunas muertas - (50).

En los diferentes países en donde se encuentra la enfermedad del CP, se ha utilizado la vacunación para su control generalmente con buenos resul - tados, y encontrándose casos esporádicos. Esto sugiere que la vacunación - puede ser un buen procedimiento para que el virus de campo no se propague, y que de esta manera se eviten los brotes (9).

En México se ha encontrado que al vacunar contra el CP, el número de brotes de esta enfermedad aumenta; este síndrome ha sido sometido a - amplios estudios planteándose la hipótesis de que al momento de vacunar a los animales ocurre cierto grado de inmunosupresión y por lo tanto se puede

exacerbar a virus silvestres de CP que originalmente presentan baja virulencia; o que los cerdos puedan estar inmunosuprimidos en la granja debido a estrés, salmonelosis o micotoxinas en los alimentos, permitiendo a la cepa de baja virulencia de campo o a la vacunal que pueda revertir en algunos casos a la virulencia (9).

Generalmente, la vacunación contra CP se realiza antes del destete. Se considera que este período no es propicio para un óptimo aprovechamiento, ya que por una parte el sistema inmune no está lo suficientemente maduro para montar una respuesta y por otra parte, los anticuerpos maternos aún presentes en el organismo podrían neutralizar al virus vacunal; sin embargo, se ha demostrado que una sola vacunación a esa edad si proporciona protección (9).

Las fallas en la vacunación pueden ser debidas también al manejo inadecuado y utilización de sueros anti CP al momento de vacunar (9).

RESPUESTA INMUNE

El término inmunidad engloba al conjunto de reacciones, así como al conjunto de factores humorales y celulares producidos por el organismo, dirigidos a la eliminación de sustancias inmunogénicas, sea en forma específica o no, quedando de esta forma protegido contra las agresiones infecciosas y parasitarias y contra las proliferaciones malignas. El común denominador de las principales reacciones inmunológicas es la especificidad que poseen para las sustancias extrañas que las han inducido, los antígenos (2).

En la actualidad se sabe que en el organismo se puede presentar una gran diversidad de reacciones inmunológicas, las cuales se atribuyen a los múltiples tipos de células capaces de responder al desafío antigénico, con intervención de anticuerpos y mediadores de diversas funciones y de varias categorías de células dotadas de propiedades citotóxicas (2,3,8,51).

El sistema inmune, para su estudio, se divide en 2 grandes ramas:

1) Inmunidad Humoral, realizada por moléculas circulantes antígeno-específicas: los anticuerpos, producidos por una de las 2 grandes familias de células linfoides, los linfocitos B.

2) La inmunidad mediada por células, ejercida por células específicamente sensibilizadas, pertenecientes a la otra gran familia de células linfoides, los linfocitos T, que actúan localmente en el lugar del contacto con el antígeno, por citotóxicidad o liberación de mediadores inespecíficos o linfocinas (2,3,8,51).

La inmunología celular se ha concentrado en el estudio de los componentes celulares del sistema inmunocompetente y de las complejas interacciones celulares que, además de ser muy diversas, juegan un papel esencial en la regulación de la respuesta inmune. Los componentes celulares principales del aparato inmunológico son los macrófagos y los linfocitos (8).

Los macrófagos, aunque se consideran células no específicas con respecto al reconocimiento del antígeno, llevan a cabo un gran número de funciones dentro de las cuales destacan las siguientes: 1) La concentración, procesamiento y presentación de los antígenos a los linfocitos; 2) La producción y secreción de mediadores biológicamente activos que regulan la actividad de los linfocitos, ya sea induciendo o bien suprimiendo la división celular y la diferenciación de estas células; 3) La fagocitosis, que es la capacidad de ingestión de agregados moleculares (complejos antígeno-anticuerpo) y bacterias, la cual generalmente precede al procesamiento de los antígenos; 4) Los macrófagos que han sido "activados" o estimulados, poseen la capacidad de destruir a las células tumorales (8).

Los linfocitos, según su función, sitio de diferenciación y moléculas que expresan en su superficie, han sido clasificados en 2 grandes grupos: - linfocitos B y linfocitos T.

Los linfocitos B son los precursores de las células plasmáticas, encargadas de la producción de los anticuerpos, y al parecer se diferencian en los órganos linfáticos asociados al tubo gastrointestinal (49) ó en la médula ósea (2,18). Los linfocitos B expresan en su superficie moléculas de IgM e IgD,

similares a los anticuerpos que las células plasmáticas descendientes de ellas, secretan.

Los linfocitos T pasan parte de su proceso de diferenciación en el timo. De aquí se derivan dos poblaciones de timocitos: una compuesta por células pequeñas, inmaduras, susceptibles a la cortisona y que constituyen del 85-90% de la totalidad de las células linfoides del timo; la segunda población, que constituye un 10% de la población total, está compuesta por células un poco más grandes, situadas en la médula del timo y resistentes a la cortisona. Estas células son bastante maduras y son las que constantemente salen del timo para ir a poblar los órganos linfoides periféricos (2,3,8,18,51).

Existen varias subclases de linfocitos T, cada una de las cuales realiza una función determinada, ya sea regulatoria o efectora. Dentro de los linfocitos T reguladores se encuentran los linfocitos T cooperadores y los linfocitos T supresores, ambos encargados de la regulación de los linfocitos B o de los linfocitos T efectores (2,3,8,18,51).

Los linfocitos T efectores son los responsables de la inmunidad mediada por células, la destrucción de las células tumorales, rechazo de aloinjertos y la eliminación de algunas células infectadas por virus (2,3,8,18,51).

De manera muy general, una forma de respuesta inmune a un desafío antigénico sería la siguiente:

El desafío puede ocurrir en cualquier lugar del cuerpo; y será necesario el transporte del antígeno hacia nódulos linfáticos locales o a órganos linfoides secundarios (médula ósea o bazo). Previo al estímulo antigénico, existen relativamente pocas células linfoides capaces de responder al reto. Las células de especificidad apropiada inician un proceso de "expansión clonal" y una gran proporción de la progenie se diferenciará a células efectoras, mientras el resto quedará como células de "memoria". El ataque del antígeno a los receptores de membrana provoca la proliferación, pero la señal de diferenciación no está aún claramente definida. La propagación de la respuesta está determinada por la concentración local de material antigénico (disminuida por la digestión de macrófagos, y posiblemente aumentada por la presentación adecuada en células fagocíticas). La respuesta inmune también es controlada por las distintas subpoblaciones de linfocitos T cooperadores o supresores y por variaciones en las concentraciones de moléculas mensajeras a nivel local, algunas de las cuales son antígeno-específicas y otras no, más aún, algunas son estimuladoras, mientras otras son inhibitoras (51). De los sistemas reguladores humorales, actualmente el mejor comprendido es el sistema estimulante con factor de crecimiento de células T; no es antígeno específico y posiblemente sea el principal mecanismo de proliferación celular (51).

Los macrófagos estimulados liberan interleucina 1 (II-1), la cual a su vez estimula ciertas células T para sintetizar y secretar II-2, esta después se fija a células T que presentan el receptor adecuado en su superficie inducido por el estímulo antigénico. La fijación de II-2 a su receptor es un

poderoso estímulo de replicación (51).

Conforme aumenta la respuesta inmune, una proporción mayor de células producidas por expansión clonal se diferencía a células efectoras. Las células B pasan a células plasmáticas y sintetizan y liberan anticuerpos específicos (predominantemente IgM, IgG o IgA) los cuales pueden participar en varias formas de reacción, tales como precipitación de antígenos, muerte de células blanco (por medio del complemento), estimulación de fagocitosis por granulocitos o macrófagos, o inducción de inflamación de los tejidos. Las células T efectoras pueden ser citotóxicas para células blanco, pero su principal función en la exposición al antígeno es la síntesis y liberación de una amplia gama de linfocinas que modifican el funcionamiento de los macrófagos y otras células de tejido conectivo para producir los complicados cambios de la inflamación crónica (51).

INMUNOSUPRESION

La inmunosupresión, o depresión de la respuesta inmune, ocurre como consecuencia de algún proceso patológico o de la acción de algún agente terapéutico, viéndose de esta forma inhibidos los procesos de inmunidad (49).

Es posible delinear los diversos aspectos de la inmunosupresión bajo 3 encabezados generales (49):

1. Falta de la respuesta inmune natural o tolerancia (tolerancia o incapacidad del huésped para responder a los propios antígenos, inducida durante la ontogenia).
2. Falta de respuesta inmune inducida por enfermedad (los trastornos proliferativos que afectan las células inmunocompetentes, al igual que las enfermedades infecciosas crónicas, pueden inducir la supresión de la respuesta inmune específica). Esta inmunosupresión resulta de la acción recíproca - específica del sistema inmunitario del huésped y la enfermedad.
3. Depresión de la respuesta inmune inducida artificialmente.
Se ha sugerido una división de este apartado en 5 categorías:
 - a) Administración de antígeno. Está en función de la naturaleza de la respuesta inmunitaria que se pretende sea la afectada, entre otros muchos factores.

- b) Antisueros o anticuerpos específicos, ampliamente utilizados en la prevención de la eritroblastosis fetal.
- c) Suero antilinfocítico u otros reactivos biológicos.
- d) Radiaciones. La supresión de la respuesta inmune ocurre también cuando los animales o los humanos están sujetos al estrés consecutivo a la manipulación quirúrgica o a la radiación con rayos X. Se ha comprobado que la mayor parte de los linfocitos son sensibles a estas situaciones. La radiación induce linfocitopenia profunda en los órganos linfoides y en la circulación general, y suprime la mayor parte de las funciones especializadas en la respuesta inmune.
- e) Medicamentos citotóxicos u hormonas. Estos agentes son eficaces en la inhibición de las respuestas humorales y celulares contra toda una gama de antígenos de prueba. Sin embargo, no inhiben todas las respuestas inmunitarias de forma igual, sino que en su mecanismo intervienen una serie de factores como los siguientes:
 - i) Una respuesta inmunitaria primaria es inhibida más fácilmente -- que una respuesta inmune secundaria. Más aún, en este último caso, por lo general se observa poca o nula actividad inmunosupresiva en el sujeto sensibilizado.
 - ii) Las etapas de una respuesta inmune difieren notablemente en su susceptibilidad ante los inmunosupresores, la mayor parte de los agentes inmunosupresores son efectivos si son usados inmediatamente antes del antígeno o durante la fase de inducción (sensibilización

celular); son mucho menos activos una vez que la reacción ha entrado en fase de proliferación celular.

- iii) Los medicamentos inmunosupresores pueden ejercer una toxicidad diferente para los linfocitos T y B.
- iv) En ciertas circunstancias, puede producirse un efecto paradójico por los medicamentos inmunosupresores, primordialmente el aumento de una respuesta en particular. Por ejemplo, se atribuye una gran toxicidad a la ciclofosfamida para los linfocitos supresores, con lo cual este medicamento puede inhibir la respuesta humoral, y simultáneamente aumentar las respuestas de hipersensibilidad retardada contra el mismo antígeno.
- v) En animales enfermos, con o sin terapia la capacidad de inhibir la respuesta inmune puede variar debido a las diferentes actividades farmacológicas involucradas.
- vi) La eficacia de los agentes inmunosupresores en una respuesta primaria es muy dependiente de la sincronización de su administración relativa al desafío antigénico inicial.

Con base en su intervalo efectivo, los agentes inmunosupresores se dividen en 3 grupos:

- Grupo 1: Agentes cuya máxima actividad inmunosupresora ocurre cuando son administrados antes del antígeno. Se incluyen en este grupo glucocorticoides y radiaciones.

- Grupo II: Agentes inmunosupresores sólo si son administrados in mediatamente después del desafío inmunológico. Pertenecen a este grupo los derivados de las purinas.
- Grupo III: Agentes con actividad inmunosupresora siendo administrados preferentemente después del estímulo antigénico (ciclofosfamida) (49).

ASPECTOS FARMACOLOGICOS DE LOS CORTICOSTEROIDES

Los corticosteroides (CC) son compuestos químicamente derivados del ciclopentanoperhidrofenantreno, que llevan a cabo una gran cantidad de actividades regulatorias de varias funciones del organismo y que originalmente son producidos en la corteza de las glándulas suprarrenales, aunque en la actualidad es posible su obtención por síntesis orgánica (41).

Los CC originalmente se clasifican en:

- a) Glucocorticoides (GC), compuestos con acción sobre el metabolismo de carbohidratos y sobre todo antiinflamatoria, y que poseen oxígeno en el carbono 11.
- b) Mineralocorticoides, con acción casi exclusiva sobre el metabolismo inorgánico, especialmente sodio, y que generalmente no poseen oxígeno en el carbono 11.

Ambos grupos poseen 21 carbonos en su molécula y derivan del pregnano (41) (figura 1).

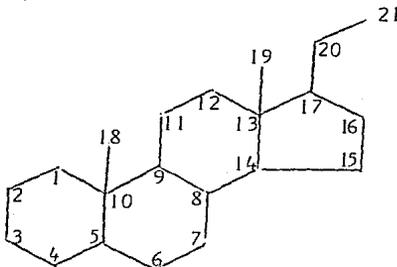


Figura 1. Estructura del pregnano.

Para los intereses de este trabajo, nos centraremos en las características más importantes del grupo de los GC.

Corticosteroides presentes en la corteza suprarrenal:

Corticosterona, Cortisona e hidrocortisona principalmente.

A algunos de estos compuestos (sobre todo a la hidrocortisona) se les han hecho algunas modificaciones, con el fin de obtener mejores efectos y disminuir las acciones no deseadas. De esto se ha derivado la Prednisona y la Prednisolona. En cuanto a la potencia de actividad, si tomamos como referencia a la hidrocortisona, la cortisona presenta un 80% de la actividad de la primera, mientras que la prednisona y prednisolona son 4 veces más potentes que la hidrocortisona, llegando hasta el cortivasol, el más potente, cuya actividad es 50 veces la de la hidrocortisona (41).

Acción farmacológica: Se describen sólo las que se consideran las principales acciones farmacológicas de los GC (41).

Metabolismo:

- a) Carbohidratos. La administración de GC produce una acción opuesta a la de la insulina, se produce un aumento de glucemia y se deposita glucógeno hepático y muscular; el nitrógeno urinario se eleva, lo cual indica la formación de carbohidratos a expensas de proteínas degradadas.
- b) Proteínas. Se acelera el catabolismo proteico, con aumento del nitrógeno urinario. Disminuye la utilización de aminoácidos para la síntesis de proteínas.

- c) Lípidos. Ocurre una redistribución de la grasa, depositándose en mejillas y dorso, pudiendo producirse obesidad. Lipogénesis.

En estos casos, se piensa que el mecanismo de acción de los GC, consiste en una estimulación de la actividad de las enzimas implicadas en los procesos metabólicos, principalmente de la desaminación de los -- aminoácidos (41).

Los GC presentan, además, importantes actividades en el funcionamiento del sistema cardiovascular, sistema gastrointestinal, sistema ner-- vioso central y músculo estriado.

A nivel de tejido linfoide, los GC provocan en animales normales, la desintegración de los linfocitos y una disminución importante en su -- producción, derivando en una baja del número de estos en sangre perifé-- rica (41).

Una serie de estudios han sido realizados con la finalidad de expli-- car la disminución en el número de linfocitos observada después de la -- administración de corticosteroides. Hasta 1960-1970, la teoría más acep-- tada mencionaba que los corticosteroides eliminaban a los linfocitos por -- linfólisis (41,58) destruyendo órganos linfoides como el timo y ganglios lin-- fáticos y aún desintegrando a las células (41); sin embargo, esta teoría se fundaba sólo en hallazgos realizados en ratas y ratones (cuyos linfoci-- tos son muy sensibles a los CC), y fue desechada cuando se demostró:

a) Que los linfocitos de cobayo y humanos presentan mayor resistencia a los CC "in vitro" (58).

b) Que aún en especies sensibles, la sensibilidad varía entre las subpoblaciones de linfocitos (58).

Estos y otros hallazgos relacionados demostraron que no podía haber extrapolación de resultados entre diferentes especies (10,11,58). Ya en 1977 se planteó la posibilidad de que la linfocitopenia observada fuera producto del secuestro de linfocitos T maduros (28), principalmente de la fracción recirculante, en la médula ósea u otros órganos linfoides (11). Algunos investigadores hablan de influencia de GC sobre activación de macrófagos (58); bloqueo de la producción de mediadores de la respuesta inmune celular (tales como I1-1, I1-2, BCGF, etc.) (25,26), y mayor sensibilidad hacia los GC por parte de los linfocitos T, observándose un menor índice de crecimiento "in vitro" de estas células que de los linfocitos B, aunque es posible que esto podría reflejar las relativas sensibilidades hacia las diferentes linfocinas y monocinas (51).

Aunque es relativamente poco lo que se sabe acerca del efecto de los CC sobre la inducción y diferenciación a células plasmáticas, los resultados obtenidos hacen suponer que el efecto es mediado tanto por células accesorias, como indirectamente por células B, impidiendo de alguna forma la maduración hacia células formadoras de anticuerpos (17). A este respecto, recientemente se ha demostrado que la presencia de corticosteroides suprime por completo la síntesis de ARN celular y proliferación (paso

de la fase G_1 a la fase S del ciclo celular) de las células B no estimuladas (5). Sin embargo también se ha demostrado que una vez que las células han recibido suficiente estímulo para madurar, los corticosteroides ya no pueden ejercer ningún efecto sobre ellas (5).

Durante la última década ha habido importantes avances en cuanto a la aclaración del modo de acción de los CC a nivel celular (4). Al parecer, la forma en que estas hormonas actúan es similar en todos los tipos de células (51). En células de mamíferos, siguen una rápida secuencia:

- a) Después de la difusión a través de la membrana celular hacia el citoplasma, el CC se fija a receptores citoplasmáticos específicos: algunos autores proponen que hay una relación directa entre el número de receptores para CC y la fase de maduración o de activación de la célula (40,47); sin embargo no existe relación entre el número de receptores y la sensibilidad de la célula hacia los CC. Por ejemplo, se ha visto que ciertas células con abundantes receptores para CC, son casi repelentes a la acción de la droga; incluso células T_{μ} y T_{γ} aisladas de sangre periférica normal, aunque presentan casi el mismo contenido de receptores, muestran sensibilidad completamente diferente a la droga (21,40).
- b) El complejo CC-receptor se traslada hacia el núcleo celular.
- c) Este complejo se fija por receptores nucleares adicionales, modificando la transcripción de ARN.

- d) Esto es seguido por un patrón alterado de síntesis de proteínas, producción de proteínas "de novo", y con esto el cambio de -- función de la célula, siendo este el último efecto de la predni solona (figura 2), (5,51).

Todo lo anterior ha sido complementando con estudios posteriores donde se ha podido determinar la naturaleza de las proteínas "de novo", caracterizándolas como antifosfolipasas, demostrando que actúan como - mediadores de la inhibición de fosfolipasa de membrana celular, e induciendo un efecto específico de los corticosteroides en la síntesis de pro_g taglandinas (5).

En el hombre se ha observado que la administración de GC, provoca una linfocitopenia que se detecta a las 2 horas y dura unas 12 horas, la cual se atenúa y aún desaparece con la administración prolongada. Fauci & Dale (1974) (22) observaron después de la administración - de una dosis única pero elevada de hidrocortisona, que la disminución de linfocitos T fue extrema entre 4-6 horas, regresando a los valores - normales a las 24 horas. Yu, et al. (1974) (59) obtuvieron en procesos semejantes, linfopenia a las 6 horas con un porcentaje de disminu-- ción de las células T y reducción en los números de las células T y B. Ambos grupos asocian la linfopenia, con una redistribución transitoria de linfocitos T a médula ósea o con una retención de la recirculación.

La administración de GC produce una disminución de eosinófilos cir culantes, mientras que el efecto es inverso para glóbulos rojos, así como

para los neutrófilos, en cuyo caso se han tenido conteos de $20,000 /\text{mm}^3$ luego de la administración prolongada. Esto se debe a 2 factores: a) Aumento en la liberación de células de la médula ósea; b) Desmarginación de células adheridas al endotelio de pequeños vasos sanguíneos (49).

A nivel del sistema inmune, los GC son capaces de inhibir la síntesis de inmunoglobulinas, lo cual se atribuye a los efectos de estos fármacos sobre las subpoblaciones de células linfoides, así como posible lisis de células plasmáticas (41).

Una de las acciones más sobresalientes de los GC es la de suprimir la respuesta inflamatoria de los tejidos tales como los mesenquimáticos (conectivo) a los agentes irritantes, infecciosos y agresores; también presentan - acción antiinflamatoria en procesos reumáticos inflamatorios (artritis reumatoide, fiebre reumática aguda). Además, los GC también tienen la propiedad de inhibir la respuesta alérgica de los tejidos (41).

Los GC se absorben perfectamente por todas las vías, y una vez ocurrido esto, pasan a la sangre para unirse con proteínas transportadoras (transcortina); a la saturación de esta (20-30 mcg/100 ml), el exceso de esteroide se une a la albúmina del plasma. Esto sirve como depósito, y la liberación de aquí, lleva a los GC a todos los tejidos, donde son metabolizados, sobre todo en el hígado (41).

La intoxicación por GC no se considera como efecto tóxico propiamente, sino como efecto farmacológico aumentado (41).

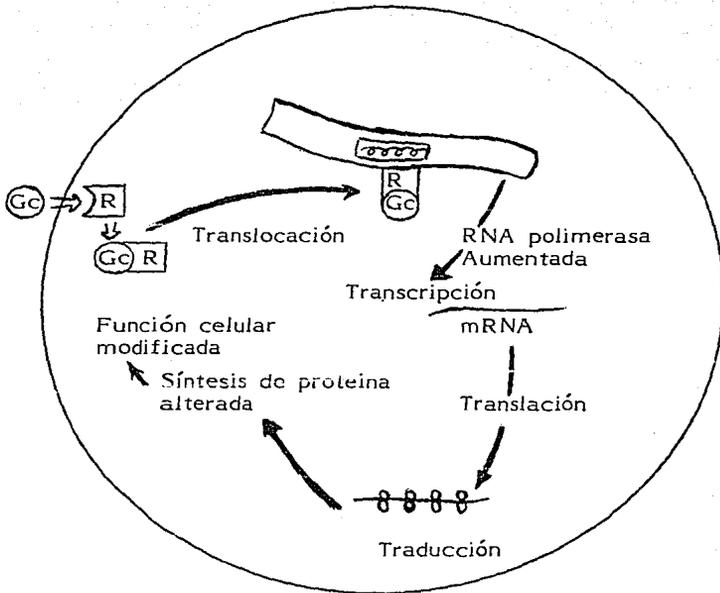


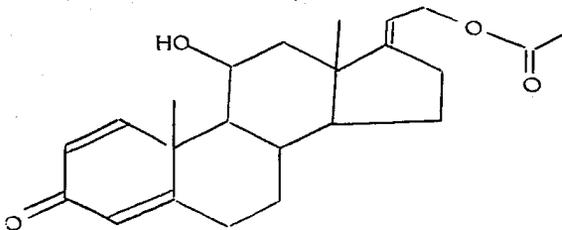
Figura 2. Modo de acción de los glucocorticoides (51).

GC : Glucocorticoide

R : Receptor

Figura 3.

CARACTERISTICAS QUIMICAS
 ACETATO DE PREDNISOLONA (53)



21-ACETATO DE 11- HIDROXIPREGN-1,4,17-TRIENO-3-ONA
 21-ACETATO DE 3-OXO-11- HIDROXI-1,4,17-PREGNATRIENO

FORMULA CONDENSADA : $C_{23}H_{30}O_4$

PESO MOLECULAR : 370 g/mol

CRISTALES BLANCOS

MUY POCO SOLUBLE EN AGUA

PARCIALMENTE SOLUBLE EN ALCOHOL

SOLUBLE EN METANOL

INMUNOSUPRESION POR VIRUS

Dada la cantidad de estudios y reportes realizados, algunos de ellos tan antiguos como desde 1908, hoy ha quedado bien establecido el hecho de que los virus son capaces de ejercer efectos inhibitorios significativos en el sistema inmune (57). Estos estudios han sido llevados a cabo con numerosos tipos, familias y especies de virus, en diversas especies de animales e incluso en humanos, en experimentos tanto "in vivo", utilizando, por ejemplo, la reacción de hipersensibilidad retardada cutánea, como -- "in vitro" midiendo la reactividad contra agentes mitogénicos específicos, por parte de los linfocitos preincubados con virus (32,57). De aquí se ha observado que muchos virus tienen la capacidad de inhibir las respuestas proliferativas de linfocitos, al tratar de ser éstos estimulados por la presencia de mitógenos; sin embargo, los mecanismos por los cuales esto ocurre aún no han quedado bien aclarados (32). Además, algunos estudios recientes han demostrado que los efectos inhibitorios observados por infección con virus vivo, también pueden detectarse con virus inactivado con luz UV (32). Una posible explicación a esto sería que ocurrieran interacciones estructurales no específicas entre la envoltura viral y la membrana citoplasmática (32,56).

Algunas enfermedades provocadas por virus que tienen la capacidad de inducir inmunosupresión son: Leucemia murina (44), Leucemia felina (12,44,55), Sarampión (32,55), Poliomeilitis (32,57), Rubeola (32,57), Enfermedad por citomegalovirus murino (32), y Enfermedad por retrovirus -- aviar (32), entre otras.

Como resultado de todos estos estudios, se han propuesto una serie de posibles factores que intervienen en la inmunosupresión tales como:

- 1) La interacción virus-linfocitos en forma no específica, con la resultante inhibición de la síntesis de ADN celular, inducida por mitógenos (56).
- 2) Producción de un factor soluble inhibidor de linfocitos, por parte de células esplénicas que han tenido contacto con virus (12,32).
- 3) Activación de linfocitos supresores con acción directa sobre linfocitos capaces de responder a estímulos antigénicos o mitogénicos (31,32).
- 4) Al parecer, la interacción virus-macrófagos podría considerarse como una posible causa de la inhibición de la mitogénesis, dado que previos estudios han demostrado que el ataque directo de los virus contra macrófagos, estimula a estos para sintetizar un factor con potencial inhibitorio sobre linfocitos (32,33,55,57).
- 5) Es posible que los virus interfieran con la biosíntesis, fijación a células blanco, o con el modo de acción del factor de crecimiento de células T (TCGF) (57) o de algunas linfocinas (12,44,55).

Incluso, algunos estudios han permitido suponer que un solo virus es capaz de provocar inmunosupresión, pudiendo seguir para esto diferentes vías como alternativa. Tal es el caso del virus de la leucemia felina - -

(FeLV) y el virus de la leucemia murina (MuLV), con los cuales se ha observado la supresión de la respuesta inmune celular por varias vías: a) Impidiendo la respuesta normal a linfocinas por parte de linfocitos T activados; b) Impidiendo la producción de linfocinas mitogénicas por linfocitos T activados (45).

Aunque los avances en cuanto al conocimiento del mecanismo por el cual los virus inhiben la respuesta inmune son bastantes, los propios autores coinciden en que aún quedan muchas interrogantes por aclarar para poder llegar a establecer perfectamente el, o los mecanismos de acción inmunosupresora de los virus.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En las condiciones de campo, se ha observado que al vacunar a los cerdos contra el CP, se producen brotes de esta enfermedad (ya sea en su forma atípica postvacunal, o en su forma clásica) o de algunas otras. De estas observaciones se derivan una serie de interrogantes:

Cuáles son los factores que podrían intervenir en el desarrollo de la enfermedad, después de haber sido administrada la vacuna?

Podría atribuirse a una posible reversión de la patogenicidad del virus vacunal del CP?

Influye de alguna manera el medio ambiente en la predisposición de los animales a desarrollar enfermedades?

Como se encuentra el sistema inmune del animal en estas condiciones, considerando el estrés a que es sometido continuamente por el manejo, ya sea en la granja o en otros sitios donde permanezca?

Generalmente, las condiciones de alimentación en que se encuentran estos animales son precarias, dado que por una parte, no se tiene un buen control sobre la calidad del alimento. Por otra parte, las condiciones de aseo del lugar donde habitan los animales, muchas veces son deficientes, facilitando el continuo contacto con múltiples agentes patógenos.

Con base en la problemática establecida, planteamos el siguiente

trabajo con la finalidad de tratar de encontrar alguna respuesta a las preguntas antes expuestas, así como de determinar si efectivamente, la vacuna comercial contra el CP (Cepa PAV-1; Laboratorios Hoechst, México) - proporciona una protección adecuada, en animales susceptibles de contraer la enfermedad. Además, para tener un panorama más completo, hemos - elegido la prueba de conteo de leucocitos como uno de los parámetros -- principales en este estudio, considerando su importancia como el indicador más accesible y reproducible de la evolución de la enfermedad.

O B J E T I V O S

- 1.- DETERMINAR SI LA VACUNA CONTRA EL COLERA PORCINO (CEPA PAV-1) INDUCE UNA RESPUESTA INMUNE ADECUADA EN LOS CERDOS.
- 2.- MEDIANTE LA ADMINISTRACION DE ACETATO DE PREDNISOLONA (UN CORTICOSTEROIDE), INTENTAR UNA DEPRESION DE LA RESPUESTA INMUNE EN CERDOS, SEMEJANTE AL ESTADO PRODUCIDO POR EL ESTRES CAUSADO POR EL MANEJO EN GRANJA.
- 3.- ESTABLECER SI EXISTE DIFERENCIA EN LA RESPUESTA A LA VACUNACION CONTRA EL COLERA PORCINO EN CERDOS TRATADOS Y NO TRATADOS CON ACETATO DE PREDNISOLONA.
- 4.- OBSERVAR SI LA CONVIVENCIA CON CERDOS VACUNADOS CONTRA COLERA PORCINO INDUCE ALGUNA PROTECCION O LA ENFERMEDAD EN CERDOS SUSCEPTIBLES.

MATERIAL

Y

METODOS

MATERIAL

El material utilizado fue el usual para un laboratorio clínico.

REACTIVOS

Solución de Azul de Tripano al 2%. (ver apéndice II).

Colorante de Wright. (ver apéndice II).

Reactivo de Turk. (ver apéndice II).

Solución Amortiguadora de Fosfatos. (ver apéndice II).

Heparina sódica. (Burns Pharmaceuticals, Oakland, Ca.).

Acetato de Prednisolona. (aportada por el Dr. F. Urquiza, Laboratorios Hoechst, México)

MATERIAL BIOLÓGICO

Vacuna de virus contra Cólera Porcino, cepa PAV-1.

Suspensión de virus patógeno de Cólera Porcino cepa Lederle.

Fitohemaglutinina-M (Gibco).

16 cerdos de aproximadamente 8 semanas de edad, de 10-15 Kg de peso inicial, y de raza no específica, que fueron distribuidos de la siguiente manera:

Grupos experimentales:

- Lote I : Grupo de 5 animales
Tratados con acetato de prednisolona y vacunados.
- Lote II : Grupo de 5 animales
Solamente vacunados.
- Lote III : Grupo de 3 animales. Sin tratamiento y sin vacuna.
Estos animales permanecieron conviviendo con los animales vacunados.
- Lote IV : Grupo de 3 animales. Sin tratamiento y sin vacuna.
Estos animales permanecieron aislados del resto hasta el día del desafío.

METODOS

El trabajo experimental fue dividido en 2 partes: A) Trabajo en los corrales, B) Trabajo en el laboratorio.

A: Trabajo en los corrales.

Toma de temperatura corporal. La temperatura se obtuvo sujetando firmemente al animal, e introduciendo el termómetro en el recto, manteniéndolo así durante 3-5 minutos. Los datos de temperatura fueron obtenidos todos los días del experimento y de todos los animales.

Intradermorreacción. Esta prueba se realizó con el objeto de determinar directamente el efecto del tratamiento sobre la respuesta inmune de tipo celular. A un tiempo cero, se tomó con el Vernier, la medida del grosor de la piel, de la cara interna de uno de los miembros posteriores del animal. Esta medida quedó como dato basal. Se administró en la misma área, por una parte, 0.1 ml de PBS como control, y por otra 0.1 ml de fitohemalutinina (laboratorios Gibco) como indicador de la respuesta por parte del animal. A las 24 horas se mide el grosor de la piel justamente en el punto donde fué administrada una u otra sustancia. Esta medida indica la respuesta inmune y se grafica. Fue realizada con los animales de los lotes I y II.

Administración de acetato de prednisolona (AP). A cada uno de los animales de lote I le fueron administrados por vía intramuscular, 100 mg de acetato de prednisolona (la cual fue aportada por el Doctor F. Urquiza,

Laboratorios Hoechst, México) en solución alcohol/glicerina (3:1 v/v), en una concentración de 50 mg/ml, diariamente durante 6 días.

Sangrado. La obtención de sangre fue por medio de punción en la vena yugular, recogiendo aproximadamente 3 ml de sangre en una jeringa de 5 ml con anticoagulante.

Vacunación. El día 6, posterior al inicio del experimento, a cada uno de los animales de los lotes I y II se les administraron 2 ml de vacuna de virus vivo atenuado contra CP, cepa PAV-I (aproximadamente 10^7 partículas virales/ ml). Cabe señalar que ese mismo día, antes de la vacunación, fueron retirados a un corral aparte, 3 animales, (designados -- como lote IV).

Desafío. El día 27 del experimento fue reunido el grupo de animales del lote IV con el resto de los animales y a cada uno de ellos, le fueron administrados 2 ml de una suspensión de virus patógeno de CP, cepa Lederle (aproximadamente 1×10^{11} partículas virales/ ml) (DL_{50}).

Necropsia. A cada uno de los animales que murieron, posteriormente al desafío, le fue practicada la necropsia, para certificar que efectivamente su muerte había sido consecuencia de la enfermedad del CP, esto con base en la observación de lesiones características en órganos específicos.

B. Trabajo en el laboratorio.

Conteo diferencial de células de serie blanca. Este se realizó a -

partir de extensiones de sangre, utilizando el método de los dos portaobjetos y aplicándoles la tinción de Wright. Se contaron 200 células en cada frotis y se determinó el porcentaje de: linfocitos, neutrófilos segmentados y en banda, monocitos, eosinófilos y basófilos.

Conteo de leucocitos totales. Se realizó en cámara de Neubauer:

- 1) En una pipeta de Thoma para glóbulos blancos, se toma sangre heparinizada, hasta la marca de 0.5.
- 2) La sangre se diluye con reactivo de Turk llenando hasta la marca de 1.1.
- 3) Homogenizar durante 5 minutos.
- 4) Se desechan las 3 primeras gotas y con la siguiente se carga la cámara de Neubauer.
- 5) Se procede a contar en la cuadrícula de glóbulos blancos.
- 6) Aplicando los factores de corrección conocidos, se obtiene el conteo aproximado de leucocitos totales.

TABLA I

DIAGRAMA DE ACTIVIDADES REALIZADAS DURANTE EL EXPERIMENTO

GRUPO EXPERIMENTAL	I	II	III	IV
ACTIVIDADES				
Temperatura	Del día 0 al día 38 (fin del experimento)		Del día 0 al día 34 (muerte del 3er. animal)	Del día 0 al día 37 (muerte del 3er. animal)
Separación de corral				Del día 6 al día 27 (reunión de los grupos)
Sangrado	Del día 0 al día 24			
Intradermorreacción	Del día 0 al día 23		Del día 24 al día 34	Del día 24 al día 37
Tratamiento C/prednisolona	Del día 0 al 5			
Vacunación	Día 6			
Desafío	D I A			2 7
Signos clínicos	Los signos clínicos fueron observados desde el día de la vacunación hasta el final del experimento			Fueron observados a partir del desafío
Necropsia				Fue realizada el mismo día que moría el animal

RESULTADOS

En el presente experimento, 16 cerdos fueron utilizados para estudiar el efecto de la vacuna contra CP en cerdos tratados y no tratados con acetato de prednisolona. Los resultados obtenidos quedan incluidos en las tablas y figuras anexadas a este trabajo. Los valores presentados son los promedios (\pm error estándar (EE)) de cada uno de los grupos en que fueron distribuidos los animales. Además, a estos valores se les aplicó el análisis estadístico utilizando la prueba de distribución t de "Student" ($p=0.05$) (48).

La tabla 2 incluye la temperatura corporal promedio, de los diferentes lotes de animales, desde el día 0 hasta el final del experimento.

En la tabla 3 se muestran los registros de intradermorreacción contra el mitógeno fitohemaglutinina, indicando el aumento del grosor de la piel por la induración, tanto en unidades de longitud (mm) como en porcentaje (%).

Las tablas 4 y 5 incluyen valores absolutos y relativos de leucocitos y las subpoblaciones de leucocitos en cerdos tratados y no tratados con AP, respectivamente.

Efecto de la vacunación contra CP y del posterior desafío con virus patógeno de CP, sobre la temperatura corporal de cerdos tratados y sin tratar con AP. En la figura 4, se observa que los cerdos tratados con AP mantuvieron su temperatura corporal ligeramente elevada con respecto a la de los cerdos no tratados, durante los primeros 20 días. Pos-

teriormente se observa un comportamiento semejante en ambos grupos. En general no se detectó un aumento por encima de los niveles normales en ninguno de los grupos. El desafío con virus patógeno de CP no tuvo ninguna repercusión sobre la temperatura corporal de estos grupos.

Efecto del virus patógeno de CP (cepa Lederle) sobre la temperatura corporal de cerdos que mantuvieron o no contacto con cerdos vacunados contra CP (cepa PAV-1). En la figura 5 se observa que el contacto con cerdos vacunados no influye de ninguna manera sobre la temperatura corporal, ya que tanto el grupo que mantuvo contacto con animales vacunados como el que no lo tuvo, permanecen dentro del rango normal de temperatura.

Sin embargo, la administración de virus patógeno provoca la aparición repentina de fiebre que alcanza un nivel máximo al tercer día de la inoculación (día 30), y después comienza el descenso de la temperatura, y un deterioro en las condiciones físicas de los animales.

Efecto de la vacunación sobre la respuesta intradérmica en cerdos tratados con AP. En la figura 6 se observa que los animales tratados con AP tuvieron una respuesta menor contra el agente mitogénico fitohemaglutinina, en comparación con la respuesta intradérmica montada por animales no tratados. Esta situación se mantuvo constante durante todo el experimento. La vacunación contra el CP provocó un incremento de la respuesta, el cual fue más considerable en los animales no tratados con AP. Sin embargo, únicamente en los días 1-6 se detectó diferencia estadísticamente significativa.

Efecto del virus Patógeno de CP (cepa Lederle) sobre la respuesta intradérmica de cerdos susceptibles al CP. En el caso de animales que no fueron tratados con AP, y que originalmente se consideró que fueron capaces de montar una respuesta eficiente frente a un mitógeno, se observó que la inoculación de virus patógeno de CP, provocó una disminución en la capacidad de la respuesta intradérmica contra la fitohemaglutinina. De hecho, la cepa Lederle de CP, provocó una depresión de la respuesta hasta un nivel mínimo (por la forma de registrar esta respuesta se obtuvo la misma medida 4 días antes de morir, que la obtenida el día de su muerte) (figura 7).

Efecto de la vacunación contra CP sobre las células de serie blanca de cerdos tratados y no tratados con AP:

Leucocitos totales. Durante el período comprendido del día 0 al día 5, cinco animales fueron tratados diariamente con 100 mg de AP/día, durante 6 días por vía intramuscular. Estos animales mostraron en este período, un aumento significativo en la concentración de leucocitos totales con respecto a los valores registrados de 5 cerdos no tratados, aumento que incluso supera bastante el límite superior del rango de valores normales durante los primeros 7 días del experimento (figura 8). Durante este período, se observa diferencia estadísticamente significativa. El día 6, ambos grupos fueron vacunados contra CP (cepa PAV-1), y a partir de esta fecha se observó que la diferencia en la concentración de leucocitos

totales entre uno y otro grupo comenzó a disminuir y ya para el día 12 presentaron aproximadamente el mismo valor, y a partir de esta fecha, ambos grupos presentaron un comportamiento muy similar (figura 8).

Linfocitos. En la figura 9 se muestran los valores absolutos (No. de células/mm³) y valores relativos (No. de linfocitos/100 leucocitos) de linfocitos circulantes en sangre periférica de los cerdos. De los valores absolutos observamos que los animales que no fueron tratados con AP, en general se mantuvieron dentro de los límites normales; en cambio los animales tratados con el fármaco mostraron una tendencia a permanecer por debajo del nivel normal con un mínimo en el día 12, a partir de aquí los valores tienden a aumentar hasta llegar a una recuperación total el día 24. Sin embargo, para los valores absolutos no se encontró diferencia estadísticamente significativa. En la gráfica de valores relativos se muestra que los cerdos tratados con AP presentaron una fuerte depresión en el porcentaje de linfocitos hasta el día 15, lo cual concuerda con la última fecha en la cual se detectó diferencia estadísticamente significativa; y de allí en adelante se observa ya la tendencia a recuperarse, llegando finalmente a los valores normales el día 24.

Neutrófilos. En las figuras 10 y 11 se muestran los valores absolutos y relativos de neutrófilos en banda y neutrófilos segmentados respectivamente, y en las figuras 12 y 13 los valores absolutos y relativos de los neutrófilos totales (neutrófilos en banda  = lote 1,  = lote 2; neutrófilos segmentados  en ambos lotes) respectivamente.

Las figuras 10 y 11 muestran que el tratamiento con AP produjo un incremento gradual de ambas subpoblaciones de neutrófilos, siendo este aumento especialmente significativo en los neutrófilos en banda (los neutrófilos en banda mostraron diferencia estadísticamente significativa los días 3-10 y 19-22; los neutrófilos segmentados la mostraron los días 3-7 y 12). El nivel máximo de neutrófilos totales se presentó el día 5, después de lo cual hubo una disminución y finalmente se llegó a un rango dentro del cual se mantuvieron estables los valores (figura 12 y 13). Sin embargo, exceptuando el intervalo entre los días 12 y 17, que es cuando se observó un predominio de neutrófilos segmentados, fueron los neutrófilos en banda los que se mantuvieron constantemente aumentados, con respecto a sus niveles normales.

Esta tendencia de los neutrófilos en banda de mantener sus valores por encima de lo normal, fue mucho más notable al observar sus valores relativos. Estos valores se mantuvieron aumentados durante todo el experimento, trayendo como consecuencia que la población de neutrófilos totales permaneciera elevada, incluso cuando la subpoblación de neutrófilos segmentados se encontró disminuida con respecto a sus valores normales los días 19-24 (figura 13).

Monocitos. En la figura 14 se muestran los valores absolutos y relativos de monocitos en sangre periférica de los cerdos. Se observa en los valores absolutos que el tratamiento con acetato de prednisolona, sobre todo al inicio, provocó una elevación por encima de los valores normales,

en el número de células circulantes, manteniéndose en esta forma hasta el día 8, regresando después a los valores normales. Un comportamiento similar se observa en los valores relativos, en donde tanto los valores de cerdos tratados como de no tratados se mantuvieron en un rango próximo al límite superior de los valores normales.

Eosinófilos. La figura 15 muestra los valores absolutos y relativos de eosinófilos en sangre periférica de cerdo. Tanto los valores absolutos como relativos de ambos grupos, permanecieron sin alteración en un rango cercano al límite inferior de los valores normales.

Basófilos. Estas células por lo general no se encontraron, observándose solamente de 2 a 3 en el total de los conteos realizados.

Tabla 2. Temperaturas corporales promedio (+ error estándar) correspondientes a cada uno de los lotes experimentales en que fueron distribuidos los 16 animales. (AP: acetato de prednisona; V: vacunación; D: desafío)

DIAS	LOTE I	LOTE II	LOTE III	LOTE IV
AP-0	40.1 ±0.2	39.5 ±0.1	39.5 ±0.2	39.5 ±0.1
AP-1	40.2 ±0.1	39.8 ±0.1	39.6 ±0.3	39.4 ±0.2
AP-2	40.1 ±0.1	39.8 ±0.1	39.7 ±0.1	39.7 ±0.1
AP-3	40.1 ±0.2	39.8 ±0.1	40.0 ±0.1	39.9 ±0.2
AP-4	40.1 ±0.1	40.0 ±0.1	40.0 ±0.1	39.8 ±0.2
AP-5	40.7 ±0.1	39.8 ±0.1	39.7 ±0.1	39.5 ±0.1
V-6	40.2 ±0.2	40.1 ±0.1	40.0 ±0.2	39.7 ±0.1
7	40.0 ±0.1	39.6 ±0.2	39.7 ±0.1	39.7 ±0.1
8	39.8 ±0.1	39.6 ±0.1	39.9 ±0.1	39.9 ±0.1
9	39.9 ±0.1	39.6 ±0.1	39.9 ±0.1	39.9 ±0.1
10	40.1 ±0.1	39.8 ±0.1	39.5 ±0.1	39.9 ±0.1
11	39.8 ±0.1	39.6 ±0.2	39.7 ±0.1	40.0 ±0.0
12	39.8 ±0.1	39.7 ±0.1	39.7 ±0.1	39.7 ±0.1
15	39.8 ±0.2	39.3 ±0.1	39.5 ±0.1	39.7 ±0.1
16	39.9 ±0.1	39.5 ±0.1	39.5 ±0.1	39.6 ±0.1
17	39.4 ±0.2	39.2 ±0.2	39.3 ±0.1	39.5 ±0.3
18	39.6 ±0.2	39.2 ±0.1	39.6 ±0.1	39.6 ±0.1
19	39.6 ±0.2	39.2 ±0.1	39.3 ±0.3	38.9 ±0.6
20	39.7 ±0.1	39.6 ±0.1	39.8 ±0.1	39.3 ±0.1
21	39.6 ±0.1	39.5 ±0.3	39.4 ±0.1	39.3 ±0.1
22	39.7 ±0.1	39.9 ±0.1	39.8 ±0.2	39.8 ±0.1
23	39.6 ±0.1	39.7 ±0.1	39.5 ±0.0	39.8 ±0.1
24	40.2 ±0.2	39.8 ±0.1	39.6 ±0.1	39.8 ±0.1
25	39.7 ±0.1	39.6 ±0.1	39.9 ±0.1	40.0 ±0.1
26	39.8 ±0.1	39.7 ±0.1	39.7 ±0.1	39.8 ±0.1
D-27	39.6 ±0.2	39.9 ±0.1	39.8 ±0.1	39.6 ±0.1
28	39.7 ±0.1	39.3 ±0.1	39.6 ±0.2	39.8 ±0.2
29	39.6 ±0.1	39.3 ±0.1	40.5 ±0.1	39.8 ±0.3
30	39.7 ±0.1	39.7 ±0.2	41.6 ±0.1	41.0 ±0.5
31	39.8 ±0.1	39.6 ±0.1	41.4 ±0.1	40.7 ±0.4
32	39.5 ±0.1	39.4 ±0.1	41.3 ±0.2	40.4 ±0.5
33	39.6 ±0.1	30.5 ±0.1	41.1 ±0.3	40.1 ±0.5
34	39.4 ±0.1	39.2 ±0.1	40.3 -	39.2 ±0.2
35	39.8 ±0.1	39.5 ±0.1	-	40.5 -
36	39.5 ±0.1	39.6 ±0.1	-	41.1 -
37	39.5 ±0.2	39.1 ±0.1	-	39.2 -
38	39.5 ±0.1	39.3 ±0.1	-	-

- LOTE I : Tratados con acetato de prednisolona (100 mg/día/6 días/vía IM, y vacunados.
- LOTE II : Sólo vacunados.
- LOTE III : Sin tratamiento, sin vacuna. Cerdos de cohabitación.
- LOTE IV : Sin tratamiento, sin vacuna.

Tabla 3.- Incremento de la respuesta intradérmica (+ error estándar) contra el mitógeno fitohemaglutinina, correspondiente a cada uno de los lotes en que fueron distribuidos los 16 animales. (AP: acetato de prednisona; V: vacuna ción; D: desafío)

DIAS	LOTE I (mm)	%	LOTE II (mm)	%	LOTE III, IV (mm)	%
AP-0	2.1 \pm 0.4	97.3 \pm 17.9	2.0 \pm 0.5	88.5 \pm 20.6		
AP-1						
AP-2	2.0 \pm 0.4	85.2 \pm 15.5	3.6 \pm 0.5	161.1 \pm 20.4		
AP-3						
AP-4	1.4 \pm 0.2	59.1 \pm 10.7	1.9 \pm 0.4	85.8 \pm 16.3		
AP-5						
V-6	1.1 \pm 0.3	45.2 \pm 13.3	3.3 \pm 0.4	144.4 \pm 9.9		
9	2.1 \pm 0.1	93.0 \pm 6.5	2.0 \pm 0.4	88.5 \pm 19.4		
11	1.2 \pm 0.2	53.0 \pm 7.2	2.3 \pm 0.5	100.0 \pm 19.9		
16	2.9 \pm 0.3	127.8 \pm 13.4	4.7 \pm 0.5	209.7 \pm 22.9		
18	3.3 \pm 0.4	141.7 \pm 18.8	3.5 \pm 0.4	155.8 \pm 19.4		
20	3.5 \pm 0.4	152.7 \pm 17.5	3.5 \pm 0.5	154.0 \pm 23.7		
23	2.4 \pm 0.5	103.6 \pm 23.2	4.3 \pm 0.3	189.4 \pm 13.9		
25					4.7 \pm 0.4	204.3 \pm 17.4
D-27						
31					3.0 \pm 0.4	128.3 \pm 17.1
33					2.8 \pm 0.2	121.7 \pm 8.7
35					2.9 \pm 0.6	124.8 \pm 22.8

Tabla 4.- Valores absolutos y relativos de las subpoblaciones de leucocitos (+ error estándar) en cerdos tratados con acetato de prednisona (100 ng/día/6 días/vía intramuscular), posteriormente vacunados contra cólera porcino.

		Neutrófilos												
Días		Leucocitos	Linfocitos	Segregados	Banda	Totales	Eosinófilos	Mnócitos						
AP-0	Nb.	22820	14692	3477	2468	5945	406	1906	+1146	+489	+455	+793	+150	+419
	%	64.2	42.2	15.7	10.2	25.8	1.5	8.5	+988	+5.7	+3.1	+2.3	+0.0	+1.2
AP-1	Nb.	24440	15383	2834	3590	6425	371	2498	+988	+905	+747	+355	+129	+226
AP-2	%	63.5	43.5	11.2	13.4	24.6	1.4	10.2	+3497	+3.1	+2.4	+1.4	+0.5	+0.4
AP-3	Nb.	27320	9480	7750	7200	14950	83	1803	+3497	+660	+1260	+1150	+51	+305
AP-4	%	36.2	27.2	30.6	26.4	57.0	0.4	6.4	+5068	+3.1	+3.6	+4.2	+0.2	+0.5
AP-5	Nb.	25370	6425	8873	9773	1764	74	1755	+5068	+905	+1800	+3150	+454	+164
V-6	%	26.6	18.8	36.4	29.6	66.0	0.4	7.0	+1717	+4.4	+4.3	+5.4	+0.2	+0.6
8	Nb.	25370	9155	5810	7400	13209	250	1780	+1717	833	+1681	+580	+85	+186
	%	37.0	26.6	21.8	32.4	54.2	1.6	7.2	+1383	+4.4	+4.4	+4.1	+0.8	+0.9
10	Nb.	19475	7020	3600	6345	9945	163	1496	+1383	+850	+805	+1442	+64	+213
	%	33.2	20.1	25.9	32.7	58.6	0.7	7.5	+1943	+4.1	+4.9	+5.9	+0.4	+0.7
12	Nb.	14770	5625	6890	1495	8384	103	466	+1943	+650	+1140	+243	+25	+155
	%	37.1	16.4	47.0	11.3	58.3	0.6	4.0	+1476	+3.1	+4.2	+2.2	+0.4	+1.6
15	Nb.	18850	7821	5748	1905	7655	169	1470	+1476	+930	+790	+695	+111	+342
	%	42.9	22.7	34.1	15.0	49.1	0.8	7.3	+1179	+5.4	+5.2	+2.3	+0.3	+0.8
17	Nb.	17140	8100	5330	1430	6760	290	836	+1179	+1032	+525	+285	+114	+236
	%	46.6	23.9	31.2	15.4	46.6	1.6	5.2	+1682	+5.8	+2.6	+7.8	+0.5	+1.6
19	Nb.	20300	7672	1228	7660	8890	291	981	+1682	+1450	+282	+220	+119	+188
	%	45.2	22.2	6.0	42.2	48.2	1.4	6.0	+1285	+8.2	+0.8	+8.4	+0.5	+0.8
22	Nb.	20810	9000	1541	8481	10020	441	1005	+1285	+440	+387	+1871	+125	+128
	%	44.8	26.1	7.8	40.4	48.2	2.9	5.0	+1638	+7.5	+1.9	+6.8	+0.5	+0.8
24	Nb.	18500	10576	1553	4618	6160	190	1530	+1638	+982	+318	+751	+82	+175
	%	57.2	30.3	8.6	24.6	33.2	1.2	8.4		+1.6	+1.5	+2.3	+0.5	+0.6

Tabla 5.- Valores absolutos y relativos de las subpoblaciones de leucocitos (+ error estándar) en cerdos vacunados contra cólera porcino. (AP: acetato de prednisona; V: vacunación; D: desafío)

Días		Neutrófilos												
		Leucocitos	Linfocitos		Segmentados		Banda	Totales			Eosinófilos	Mnócitos		
AP-0	Nb.	22820	+1146	14692	+489	3477	+455	2468	+793	5945	406	+150	1906	+419
	%			64.2	+5.7	15.7	+3.1	10.2	+2.3	25.8	1.5	+0.0	8.5	+1.2
AP-1	Nb.	21200	+326	14000	+2590	4120	+1173	1346	+670	5465	440	+218	1313	+246
	%			64.5	+2.7	20.1	+4.8	7.0	+3.1	27.1	1.6	+0.7	6.8	+1.3
AP-2														
AP-3	Nb.	16750	+1721	9812	+825	3506	+561	1982	+436	5487	274	+104	1177	+242
	%			59.4	+2.9	20.6	+2.1	11.4	+1.7	32.0	1.8	+0.7	6.8	+1.1
AP-4														
AP-5	Nb.	16610	+2087	9080	+1227	3934	+418	2073	+704	6010	164	+79	1357	+260
	%			54.2	+3.3	24.4	+2.3	12.4	+1.9	36.8	1.0	+0.5	8.0	+1.1
V-6														
8	Nb.	16100	+1108	11311	+864	1525	+340	2160	+210	3685	149	+69	895	+155
	%			70.1	+1.8	9.9	+2.6	12.2	+3.3	22.1	1.1	+0.5	6.8	+1.2
10	Nb.	13350	+1250	8561	+1064	2067	+346	1670	+278	3740	70	+44	980	+96
	%			63.4	+3.5	15.6	+1.9	13.0	+2.0	28.6	0.6	+0.3	7.4	+0.5
12	Nb.	14500	+2373	9349	+2244	2353	+890	1850	+476	4203	148	+60	829	+224
	%			62.4	+4.9	15.0	+4.4	15.2	+3.7	30.2	1.0	+0.5	6.4	+1.6
15	Nb.	19640	+3032	11180	+415	4645	+820	1070	+280	5715	385	+58	835	+105
	%			63.1	+4.3	24.2	+4.7	5.7	+1.7	29.9	2.1	+0.4	4.8	+1.0
17	Nb.	13629	+1118	8561	+1390	4128	+792	850	+250	4978	190	+64	916	+241
	%			55.7	+7.9	29.8	+7.4	6.1	+1.6	36.7	1.4	+0.4	6.9	+1.8
19	Nb.	19200	+4298	8287	+930	2441	+1184	2250	+374	4691	204	+41	1083	+292
	%			59.3	+5.5	17.1	+6.2	16.1	+2.7	33.1	1.4	+0.3	6.1	+0.6
22	Nb.	21180	+5139	10508	+1082	2746	+690	3670	+1350	6416	187	+79	773	+194
	%			59.6	+4.8	16.0	+4.1	19.4	+6.9	35.4	1.2	+0.4	3.8	+0.9
24	Nb.	18660	+1867	11653	+460	1066	+264	4080	+285	5146	234	+117	1254	+278
	%			60.2	+4.0	6.2	+1.7	25.2	+5.1	31.4	1.4	+0.6	7.0	+1.5

Figura 4

Temperatura
°C

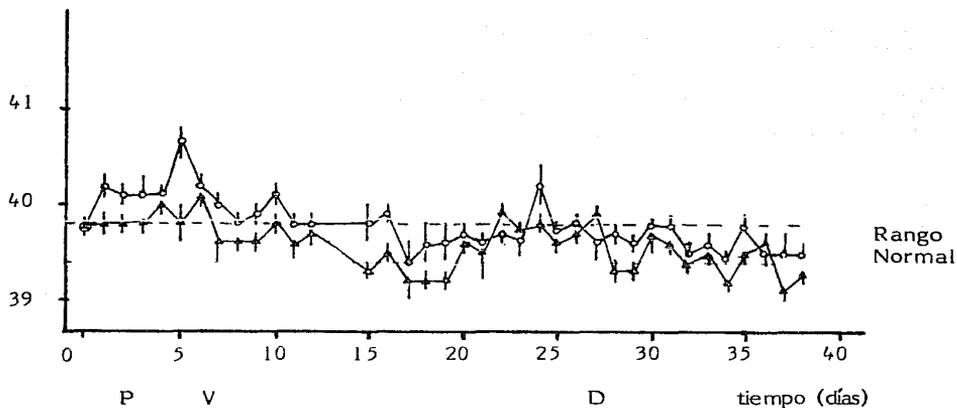


Figura 4. Efecto de la vacuna contra cólera porcino (cepa PAV-1), sobre la temperatura corporal (+ error estándar) en cerdos tratados (o—o) y no tratados (▲—▲) con acetato de prednisolona (100 mg/día, durante 6 días, por vía intramuscular). Ambos grupos fueron desafiados con virus patógeno de cólera porcino (cepa Lederle) el día 27.

Figura 5

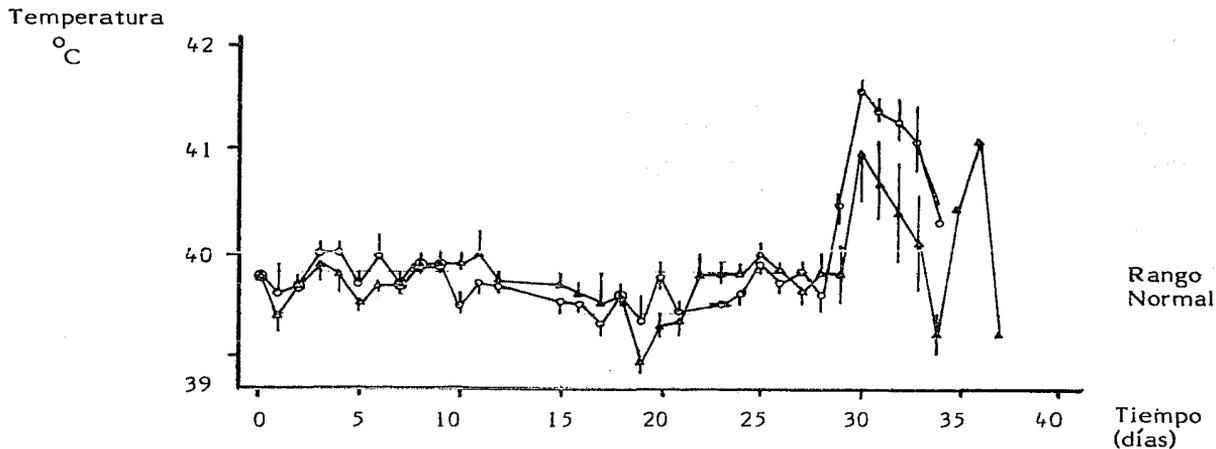


Figura 5. Temperatura corporal (\pm error estándar) de cerdos que convivieron y mantuvieron contacto con cerdos vacunados contra cólera porcino (cepa PAV-1) (o—o). Temperatura corporal (\pm error estándar) de cerdos que permanecieron aislados, sin vacuna, y sin tratamiento, durante los primeros 26 días (Δ — Δ). El día 27, este último grupo fue reunido con los animales vacunados y los no vacunados contra cólera porcino. Este día, todos los animales fueron desafiados con virus patógeno de cólera porcino (cepa Lederle), en dosis 1×10^{11} partículas virales/ml, por vía intramuscular.

Figura 6

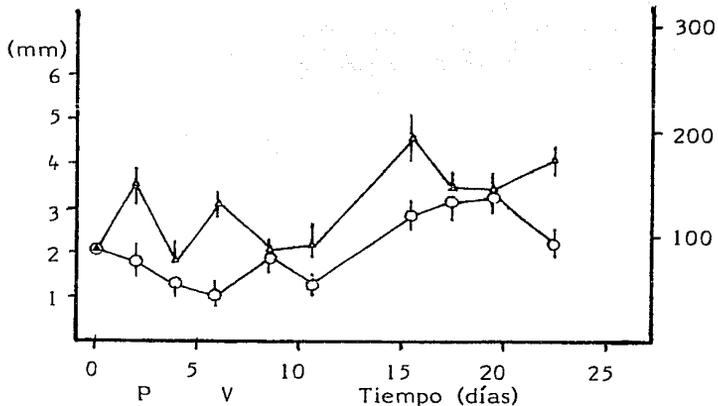
Incremento
del grosor de
pielIncremento
del grosor de
la piel (%)

Figura 6. Efecto de la vacuna contra CP sobre la respuesta inmune en prueba intradérmica (\pm error estándar) hacia el mitógeno fitohemaglutinina en cerdos tratados (o—o) y no tratados (Δ — Δ) con acetato de prednisolona (100 mg/día, durante 6 días, por vía intramuscular).

Figura 7

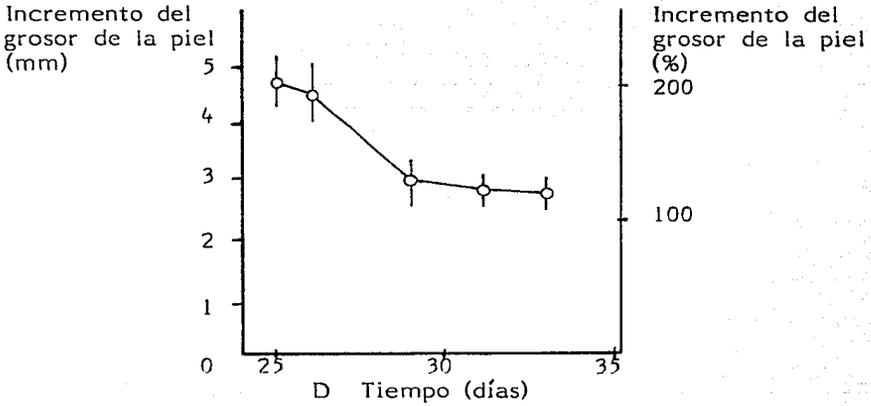


Figura 7. Efecto del virus patógeno de cólera porcino (cepa Lederle), en dosis 1×10^{11} partículas virales/ml, sobre la respuesta inmune en prueba intradérmica (+ error estándar) hacia el mitógeno fitohemaglutinina, en cerdos susceptibles.

Figura 8

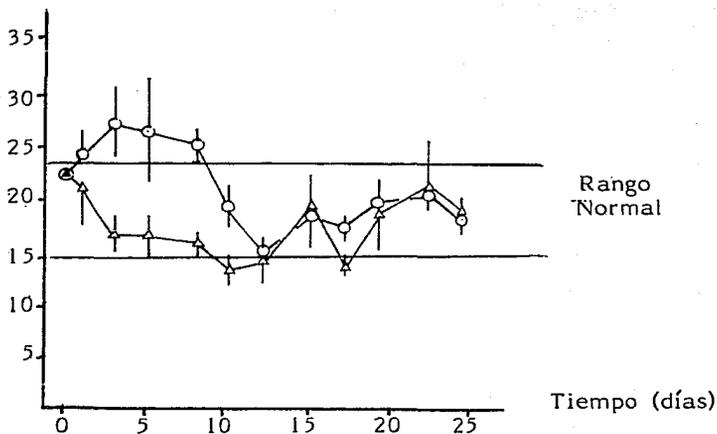
 Cel/mm^3
($\times 10^3$)

Figura 8. Cuenta de leucocitos totales (\pm error estándar) en cerdos tratados (o—o) y no tratados (Δ — Δ) con acetato de prednisolona (100 mg/día, durante 6 días, por vía intramuscular). Ambos grupos fueron posteriormente vacunados contra cólera porcino.

Cel/mm³
(X 10³)

Figura 9

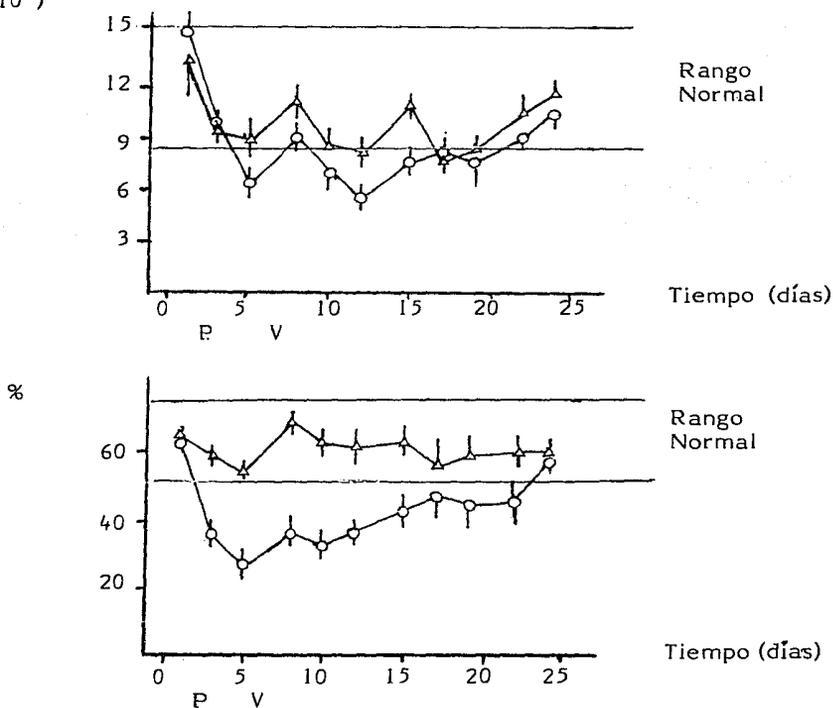
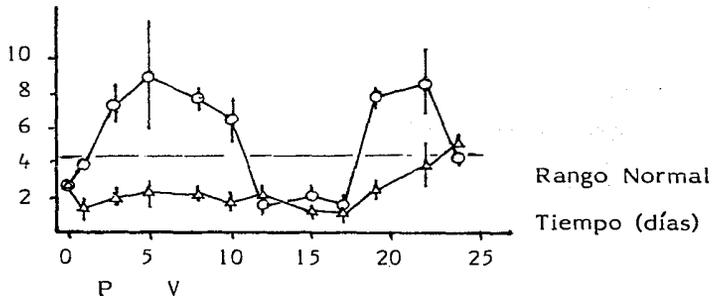


Figura 9. Valores absolutos y relativos de linfocitos (+ error estándar) en cerdos tratados (o—o) y no tratados (Δ—Δ) con acetato de prednisolona (100 mg/día, durante 6 días, por vía intramuscular). Ambos grupos fueron posteriormente vacunados contra cólera porcino.

cel/mm³
(X 10³)

Figura 10



%

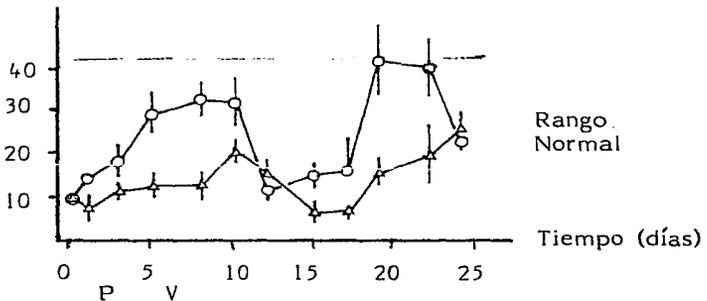


Figura 10. Valores absolutos y relativos de neutrófilos en banda (+ error estándar) en cerdos tratados (o—o) y no tratados (—) con acetato de prednisolona (100 mg/día, durante 6 días, por vía intramuscular). Ambos grupos fueron posteriormente vacunados contra cólera porcino.

cel/mm³
(X 10³)

Figura 11

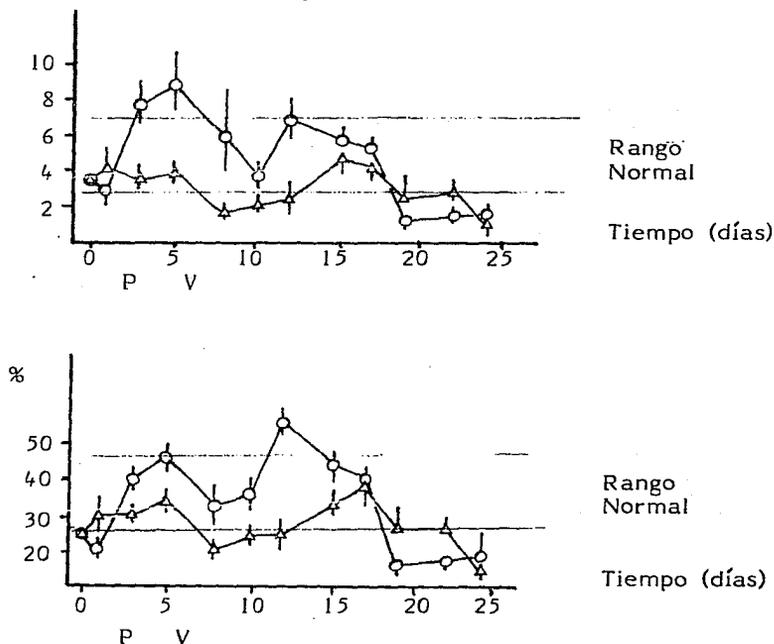


Figura 11. Valores absolutos y relativos de neutrófilos segmentados (+ error estándar) en cerdos tratados (o—o) y no tratados (—) con acetato de prednisolona (100 mg/día, durante 6 días, por vía intramuscular). Ambos grupos fueron posteriormente vacunados contra cólera porcino.

Figura 12

cel/mm³
(X 10³)

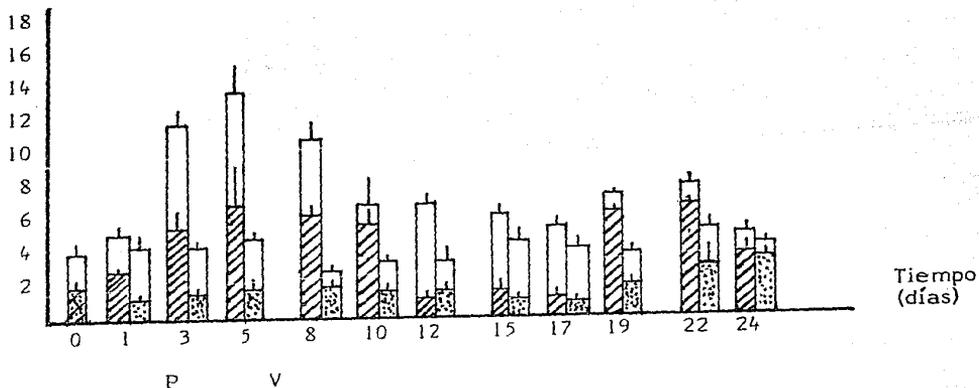


Figura 12. Valores absolutos de neutrófilos en banda () = cerdos tratados con acetato de prednisolona, 100 mg/día, durante 6 días, por vía intramuscular; () = cerdos sin tratamiento), neutrófilos segmentados () = ambos grupos) y neutrófilos totales (± error estándar). Ambos grupos fueron vacunados contra cólera porcino el día 6.

Figura 13

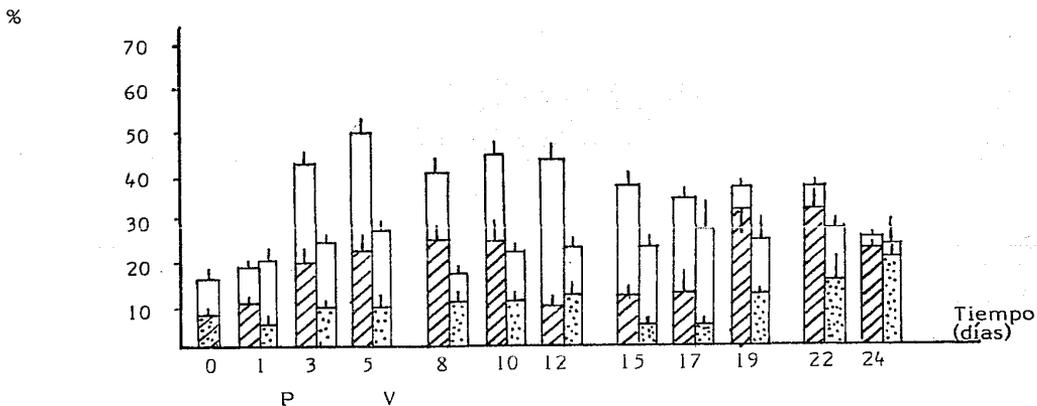
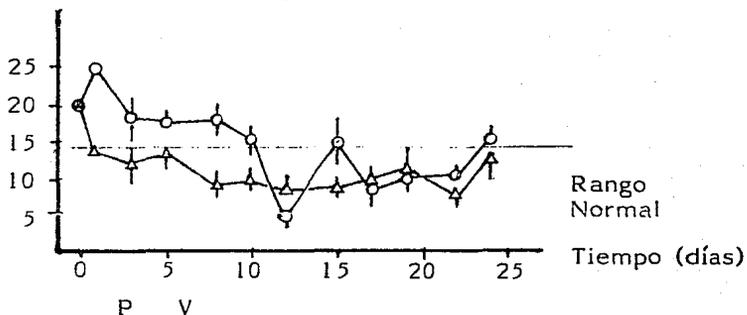


Figura 13. Valores relativos de neutrófilos en banda ( = cerdos tratados con acetato de prednisolona, 100 mg/día, durante 6 días, por vía intramuscular;  = cerdos sin tratamiento), neutrófilos segmentados ( ambos grupos) y neutrófilos totales (+ error estándar). Ambos grupos fueron vacunados contra cólera porcino el día 6.

Figura 14

cel/mm³
(X 10³)



%

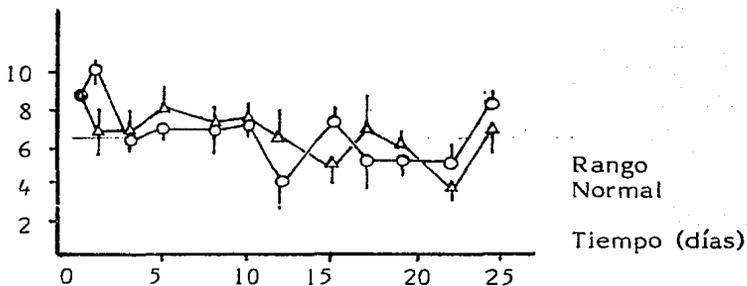


Figura 14. Valores absolutos y relativos de monocitos (\pm error estándar) en cerdos tratados (o—o) y no tratados (Δ — Δ) con acetato de prednisolona (100 mg/día, durante 6 días, por vía intramuscular). Ambos grupos fueron posteriormente vacunados contra cólera porcino.

Figura 15

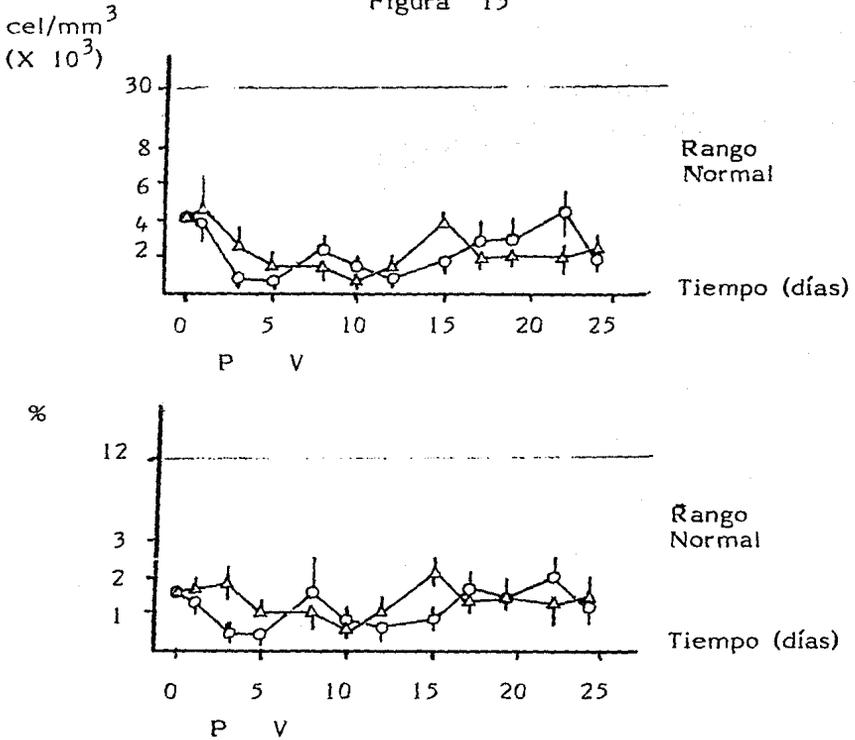


Figura 15. Valores absolutos y relativos de eosinófilos (\pm error estándar) en cerdos tratados (o—o) y no tratados (Δ — Δ) con acetato de prednisolona (100 mg/día, durante 6 días, por vía intramuscular). Ambos grupos fueron posteriormente vacunados contra cólera porcino.

DISCUSSION

Por medio del presente trabajo, ha sido posible establecer las diferencias en los efectos producidos por la administración de vacuna de virus vivo atenuado contra CP sobre la temperatura corporal, leucocitos totales y subpoblaciones, así como la respuesta inmune celular medida por la prueba de intradermorreacción, en cerdos tratados y no tratados con acetato de prednisolona.

Durante los primeros 20 días del experimento, una diferencia leve pero significativa ha sido observada entre la temperatura corporal de cerdos tratados con prednisolona y cerdos no tratados. Los animales del primer grupo muestran durante este período (especialmente en la primera fase, correspondiente al tratamiento) temperaturas constantemente elevadas. La administración de prednisolona provocó un aumento en el número de granulocitos neutrófilos y monocitos; ambos tipos de células se ha demostrado que tienen la capacidad de producir una sustancia llamada Pirógeno Endógeno, el cual actúa directamente sobre el centro termorregulador del Hipotálamo provocando la activación de los sistemas de producción y convección de calor (vasoconstricción, escalofrío) (1). El punto fijo alrededor del cual se mantiene la temperatura corporal, se eleva durante la etapa de fiebre. Cuando la temperatura ha aumentado hacia el nuevo punto fijo, comienza nuevamente la liberación de calor por las vías de conducción, convección y radiación, siendo finalmente balanceada al nuevo nivel, como si fuera el nivel normal (1).

Los linfocitos sensibilizados al parecer también tienen un papel importante en los mecanismos de elevación de la temperatura, ya que se ha demostrado que producen una sustancia no pirogénica, pero sí capaz de activar a las células productoras de Pirogeno Endógeno (como granulocitos), semejante a las linfocinas, tales como la linfotoxina y el Factor Inhibidor de Macrófagos (1).

Por otra parte, en este estudio se observó que la vacuna utilizada no presentó ningún efecto sobre la temperatura corporal de los animales. Aunque después de la vacunación se observó cierta diferencia en la temperatura de los dos grupos (figura 4), suponemos que esto aún se mantiene así por el efecto pirogénico indirecto de la Prednisolona, impidiendo que el punto fijo del centro termorregulador regrese a su nivel normal.

Los animales que fueron tratados con GC presentaron durante el período de tratamiento, una elevación en el número de leucocitos totales. Este aumento puede ser atribuido a su vez al aumento observado simultáneamente en los valores de neutrófilos (sobre todo en banda) y monocitos, aumento mencionado previamente por algunos autores (49,51) e interpretado como resultante de la desmarginación de neutrófilos y monocitos, que generalmente se encuentran adheridos al endotelio de pequeños vasos sanguíneos, así como del aumento en la liberación de células por médula ósea, ambos fenómenos, efecto de la presencia de los GC (49).

En este trabajo se pudo reiterar el efecto de los GC sobre los linfocitos circulantes, el cual consiste en una disminución en la cantidad de

estos. Este efecto ha sido observado en varios estudios realizados anteriormente (5,7,9,14,17,20,25,26,29,34,36,43,46,47,51,54). Esto permite deducir que al presentarse la disminución de linfocitos, las células que quedan a cargo de la permanencia de la respuesta inmune celular son principalmente los monocitos y los neutrófilos segmentados (maduros). La forma en que estos últimos atacan al agente agresor es por fagocitosis. Sin embargo, la capacidad fagocítica de estas células no es ilimitada, por lo cual al saturar esta capacidad, mueren. Esto produce que de la médula ósea sean liberados nuevos neutrófilos, esta vez inmaduros, en cantidad proporcional, por una parte, a la cantidad de neutrófilos muertos, y por otra parte, a la cantidad de agentes extraños presentes en el organismo.

Por otra parte, en este trabajo fue posible comprobar el hecho de que la administración prolongada de dosis elevadas de GC no produce una inmunosupresión duradera. Esto se deduce de la normalización espontánea en los valores de linfocitos y la recuperación en la respuesta intradérmica observadas en los cerdos tratados con AP, y concuerda con estudios realizados anteriormente (11,27), en los cuales se determinó que el efecto máximo alcanzado por la prednisolona en dosis única y elevada ocurre a las 4-6 Hrs. posteriores a la administración, restableciéndose los valores completamente hacia las 24 Hrs. En cambio, la administración prolongada de prednisolona no produce disminución de linfocitos T, ni tiene efecto sobre la respuesta a mitógenos en pruebas en cobayos (11,23).

Con estos estudios queda confirmado que la linfopenia transitoria y reversible no es producto de linfólisis, sino posiblemente de un secuestro de linfocitos en la médula ósea (23) o de una retención de la circulación (59).

Se ha observado en algunos estudios, que las células involucradas en la respuesta intradérmica son principalmente linfocitos T y macrófagos. En este experimento, este parámetro se ve disminuido por el tratamiento con AP; esto se justifica por el hecho de que la prednisolona disminuye la cantidad de linfocitos circulantes, y tomando en cuenta que si son precisamente linfocitos los que constituyen la parte esencial de la induración (52), la respuesta quedará lógicamente deficiente, independientemente de la cantidad y capacidad mitogénica del agente utilizado. Este efecto de la - - prednisolona se mantiene parcialmente durante un lapso de tiempo posterior a la suspensión del tratamiento, observándose que si bien la vacuna ha promovido un aumento en la respuesta, este aumento es menos pronunciado y más lento en los animales tratados.

Tomando como base los objetivos planteados, y una vez que se ha hecho el respectivo análisis de resultados obtenidos en este experimento, podemos concluir lo siguiente:

- La vacuna contra el cólera porcino (cepa PAV-1) induce una respuesta inmune apropiada en los cerdos. Esto se comprueba por el hecho de que los animales que recibieron la vacuna no mostraron ninguno de los signos clínicos característicos del cólera porcino, habiendo sobrevivido en perfectas condiciones después de haber sido desafiados con virus cuyo grado de virulencia se hizo evidente al haber provocado la muerte a animales no vacunados y susceptibles a la enfermedad.

- La administración de acetato de prednisolona (100 mg/día, durante 6 días, por vía intramuscular) en términos generales no produjo depresión prolongada, ni mucho menos crítica en la respuesta inmune de cerdos, ya que, si bien se observan diferencias en algunos de los parámetros estudiados, los animales tratados nunca se vieron comprometidos, y menos después de haber sido suspendido el tratamiento.

- En general, la respuesta a la vacuna contra cólera porcino en cerdos tratados con acetato de prednisolona ha resultado tan adecuada como la observada en cerdos no tratados, lo que constituye una prueba más de la inefectividad de la prednisolona como inmunosupresor en ese régimen.

- La convivencia con cerdos vacunados contra cólera porcino no indujo protección en cerdos no vacunados contra cólera porcino. En este

punto cabe agregar que:

- a) Esto se desprende del hecho de que los animales que convivieron con cerdos vacunados, murieron poco después de haber sido desafiados con virus patógeno.
- b) Esto no quiere decir que el virus vacunal no sea excretado por el animal, ni que el animal sin vacunar no haya tenido contacto con el virus vacunal. Existe la posibilidad de que haya sucedido este contacto, pero en una magnitud incapaz de inducir protección en el animal. Consideramos que sería interesante conocer si este contacto ocurre o no. Esto se lograría sacrificando al animal no vacunado poco después de aplicar la vacuna a cerdos de cohabitación y tratando de detectar al virus vacunal en los tejidos y células blanco, por métodos específicos.

- El virus vacunal contra cólera porcino cepa PAV-I es un virus perfectamente atenuado, ya que presenta capacidad antigénica adecuada y no presenta problemas de posible reversión a la patogenicidad, por lo cual consideramos que constituye una vacuna de uso recomendable.

RESUMEN

En condiciones de campo se ha observado que después de vacunar cerdos contra Cólera Porcino, ocurren brotes de esta enfermedad (posiblemente de tipo postvacunal ó clásico). En el presente trabajo, se trató con acetato de prednisolona (100 mg por día durante 6 días por vía intramuscular) a 5 cerdos, con la finalidad de tratar de semejar el estado fisiológico que el animal presenta en condiciones de granja, y posteriormente fueron vacunados contra Cólera Porcino (cepa PAV-1). Durante el experimento se llevó un registro de los siguientes parámetros: temperatura corporal, prueba de intradermorreacción, conteo de leucocitos totales y sus subpoblaciones en sangre periférica. Estos parámetros fueron comparados con los cerdos no tratados, aplicando el análisis estadístico utilizando la prueba de distribución t de "Student" ($p=0.05$). Entre los resultados obtenidos destacan las diferencias observadas en leucocitos totales, linfocitos y en la prueba de intradermorreacción. Se concluye que la vacuna probada indujo una protección adecuada, tanto en cerdos tratados como no tratados, así como que la administración de acetato de prednisolona en ese régimen sólo induce una supresión leve y reversible.

A P E N D I C E I

Valores normales de células blancas
(+ desviación estándar) en cerdos (39).

Células	%	células/mm ³ (x 10 ³)
Leucocitos		19.06 (+ 4.38)
Linfocitos	63.74 (+ 12.06)	11.86 (+ 3.53)
Neutrófilos	juvenil 0-6	0-1.36
banda 0-10.5		0-4.31
segmentados 25.89 (+ 10.49)		4.88 (+ 2.3)
Eosinófilos	0-12	0-3.05
Basófilos	0-1.5	0-0.37
Monocitos	0-6.5	0-1.41

A P E N D I C E II

Tinción de Wright modificado.

Preparación de reactivos:

- | | | |
|-------------------------|--------|------------|
| - Colorante de Wright | 0.5 g | (3 partes) |
| Alcohol metílico | 300 ml | |
| Glicerina | 15 ml | |
| - Colorante de Leishman | 0.5 g | (1 parte) |
| Alcohol metílico | 300 ml | |
| Glicerina | 15 ml | |

Disolver el colorante con el alcohol en un mortero. Se macera el colorante (bien disuelto).

Agregar alcohol poco a poco, se vacía en un matraz de 100 ml hasta terminar el total de alcohol. Adicionar la glicerina, se pone a fuego lento. Se realiza 4 veces la operación de fuego lento.

Se deja enfriar y se filtra.

Tiempo de tinción.

Fijar el frotis con metanol 8'.

- 1.- Agregar colorante a tensión superficial por 8'.
- 2.- Agregar agua destilada, se le sopla para mezclar uniformemente. Dejar 3'.
- 3.- Agregar 5 gotas de colorante.
- 4.- Lavar con agua destilada.

BIBLIOGRAFIA

1. Atkins E. and Bodel P., 1972. Fever. *New Engl. J. Med.* 286 (1): 27-34.
2. Bach J. F. y Lesavre, *Inmunología*. Editorial Masson, 1a. ed., 1983, España. p: 251-271.
3. Barret J. T., *Inmunología*. Editorial Interamericana. 1a. ed., 1981, México, p: 49-63,200-203.
4. Baxter J. D., Funder J. W., 1979. *New Engl. J. Med.*, 301: 1149-1161.
5. Bowen D. L. and Fauci A. S., 1984. Selective suppressive effects of glucocorticoids on the early events in the human B cell activation process. *J. Immunol...* 133 (4): 1885-1890
6. Bustos, F. J. M., y Stephano, H. A., 1985. *Cólera Porcino (1)*. *Sin tesis Porcina*. 3 (12): 8-11.
7. Carbrey E. A., Stewart W. C., Kresse J. I., and Snyder M. L., 1979. Persistent hog cholera infection detected during virulence typing of 135 field isolates. *Am. J. Vet. Res.*, 41 (6): 946-949.
8. Celis F., E., *Inmunología*. En: *La Biología Contemporánea*. Peña A., *Las Ciencias en el Siglo XX*, Universidad Nacional Autónoma de México, 1983, p: 159-183.
9. Cervantes, N. G., Velazco, J. M., Martínez, S.A. G., Morilla, G. A., 1987. Encuesta sobre las vacunas y los programas de inmunización contra el *Cólera Porcino* en granjas del Estado de México. *Vet. Méx.*, 18: 45-54.
10. Claman H. N., 1972. Corticosteroids and lymphoid cells. *New Engl. J. Med.*, 287 (8): 388-397.

11. Cooper D. A., Petts V., and Luckhurst E., 1979. The effect of acute and prolonged administration of prednisolone and ACTH on lymphocyte subpopulations. *Clin exp. Immunol.*, **28**: 467-473.
12. Copelan E. A., Rinehart J. J., Lewis M., Mathes L., Olsen R. and Sagone A., 1983. The mechanism of retrovirus suppression of human T cell proliferation in vitro. *J. Immunol.*; **131**(4):2017-2020.
13. Correa Girón, P., 1981. Cólera Porcino. En, *Enfermedades virales de los animales domésticos (Monogástricos)*. Vol. I. Tercera edición, México, D.F. p: 7-28.
14. Correa Girón, P., 1984. Importancia de la inocuidad y potencia de los productos contra el Cólera Porcino. En: *Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria, 1984*. México, D.F. p: 139-141.
15. Corthier G., Labadie J. P., et Petit E., 1977. Réponse immunitaire humorale et cellulaire du porc consécutive á la vaccination ou á l'infection sub-clinique par le virus de la peste porcine classique. *Bull. Acad. Vét. de France*, **50**:425-433.
16. Corthier G., 1978. Cellular and humoral immune response in pigs given vaccinal and chronic hog cholera viruses. *Am. J. Vet. Res.*, **39**(11): 1841-1844.
17. Cupps, T.R. and Fauci, A.S., 1982. Corticosteroid-mediated immunoregulation in man. *Immunol. Rev.* **65**:133-155.
18. Dulbecco, R., y Ginsberg, H., S., *Togavirus y otros virus transmitidos por artrópodos*. En: *Tratado en Microbiología*. Davis B. D., Dulbecco R., H. N. Eisen, H. S. Ginsberg, W. B. Wood, M. McCarty. Salvat Editores, S.A., 2a. ed., 1979. España. p: 1401-1420.

19. Dunne W. H., 1970. Hog Cholera. En: Diseases of swine. Edited by Howard W. Dunne. University Press. Ames, Iowa, USA. Third edition, p: 177-239.
20. Emerson, J. L., and Delez, A. L., 1965. Cerebellar hypoplasia, hypomyelogenesis and congenital tremors of pigs associated with prenatal hog cholera vaccination of sow. J.A.V.M.A., 147(1):47-54.
21. Fauci A. S., Mura K. T., Brandon D. D., Loriaux D. L. and Lipsett M. B., 1980, Cellular Immunology. 49:43-50.
22. Fauci A. S. and Dale D. C., 1974. The effect of in vivo hydrocortisone on subpopulations of human lymphocytes. J. Clin. Invest., 53:240-246.
23. Fauci A.S., 1975. Mechanism of corticosteroid action on lymphocyte sub-populations: I. Redistribution of circulating T and B lymphocytes to the bone marrow. Immunol., 28:669. 53.
24. Fukusho, A., Ogawa, N., Yamamoto, H., Sawada, M., and Sazawa, H., 1976. Reverse plaque formation by hog cholera virus of the of GPE strains inducin heterologous interference. Infection and Immunity. 14:332-336.
25. Gillis S., Crabtree R. G. and Smith A. K., 1979. Glucocorticoid-induced inhibition of T cell growth factor production: 1. The effect on mitogen-induced lymphocyte proliferation. J. Immunol.. 123(4):1624-1631
26. Gillis S., Crabtree H. G. and Smith A. K., 1979. Glucocorticoid-induced inhibition of T cell growth factor production: The effect on

- the in vitro generation of cytolytic T cells. *J. Immunol.*, **123**(4):1632-1638.
27. Greenberger P. A., Chow M. J., Atkinson A. J., Ambre J. J. and Patterson R., 1985. Comparison of prednisolone Kinetics in patients receiving daily or alternate-day prednisone for asthma. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **39**:1630-168.
28. Haynes B. F. and fauci A. S., 1978. The differential effect of in vivo hydrocortisone on the Kinetics of subpopulations of human peripheral blood thymus-derived lymphocytes. *J. Clin. Investi.*, **61**:703-707.
29. Hernández Baumgarten E., 1981. Clasificación y nomenclatura de los virus de vertebrados (Excerpta del cuarto reporte del Comité Internacional para la taxonomía de los virus).
30. Hernández Macías A., 1986. Efectos del virus del Cólera Porcino sobre los leucocitos y las subpoblaciones de linfocitos circulantes de los cerdos. Tesis Licenciatura. FESC-UNAM, México.
31. Hurwitz J. L. and Hackett C. J., 1985. Influenza-specific suppression: contribution of major viral proteins to the generation and function of T suppressor cells. *J. Immunol.*, **135**(3):2134-2139.
32. Israel E., Beiss B. and Wainberg M. A., 1980. Viral abrogation of lymphocyte mitogenesis: induction of a soluble factor inhibitory to cellular proliferation. *Immunol.*, **40**:77-85.
33. Israel E. and Wainberg M. A., 1981. Viral inhibition of lymphocyte mitogenesis: the role of macrophages as primary targets of virus-cell interaction. *J. Reticuloendothel. Soc.*, **29**:105.

34. Kamiyo Y., Ohkuma S., Shimuzu M. and Shimizu Y., 1977. Differences in pathogenicity and antigenicity among hog cholera virus strains. *Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart.*, **17**:133-140.
35. Lai S. S., Chen C. S., Ho W. C., and Huang T. H., 1980. An immunodiffusion test for detection of hog cholera virus antibodies in swine serum. *J. Chinese Soc. Vet. Sci.*, **6**:83-86.
36. Langhoff E. and Olgaard K., 1986. In vitro immunosuppressive potency of deflazacort, a new bonesparing corticosteroid on T lymphocytes, NK and K cells. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **21**:125-129.
37. Laude H., 1978. A direct plaque assay for hog cholera virus. *J. gen. Virol.*, **40**:225-228.
38. Laude, H., 1978. Virus de la peste porcine classique: interference avec le VSV et titrage par le procede des plages in verses. *Arch. Virol.*, **56**: 273-277.
39. Leman A. D., Glock R. D., Mengeling W. L., Penny R. H. C., Scholl E., and Straw B., 1981, *Diseases of swine*. The Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA. Fifth edition, 1981, p: 35.
40. Lippman M. E., Halterman R. H., Leventhal B. G., Perry S. and Thompson E. B., 1973. Glucocorticoid-binding proteins in human acute lymphoblastic leukemic blast cell. *J. Clin. Invest.*, **52**:1715-1725.
41. Litter M., *Farmacología Experimental y Clínica*. Cap. 37. *Farmacología de las suprarrenales y de la hipofisis anterior*. Ed., El Ateneo. 5 ed., 1977, Argentina. p: 1155-1197.

42. Mengeling W. L., and Packer R.A., 1969. Pathogenesis of chronic hog cholera host response. *Am. J. Vet. Res.*, 30(3):409-417.
43. Oirschot, J. T. and Van Terpstra, C., 1977. A congenital persistent swine fever infection. I. Clinical and virological observation. *Vet. Microbiol.*, 2:121-132.
44. Orosz C. G., Zinn N. E., Olsen R. G. and Mathes L. E., 1985. Retrovirus-mediated immunosuppression: I. FeLV-UV and specific FeLV proteins alter T lymphocyte behavior by inducing hyporesponsiveness to lymphokines. *J. Immunol.*, 134(5):3396-3403.
45. Orosz C. G., Zinn N. E., Olsen R. G. and Mathes L. E., 1985. Retrovirus-mediated immunosuppression: II. FeLV-UV alters in vitro murine T lymphocyte behavior by reversibly impairing lymphokine secretion. *J. Immunol.*, 135(1):583-590.
46. Ramirez Necoechea, R., 1983. Aspectos clínicos del Cólera Porcino. En: *Simposium sobre el Cólera Porcino en México*. Publicado por AMVEC, México, D.F., p: 9-13.
47. Smith K. A., Crabtree G. R., Kennedy S. J. and Munch A. U., 1977. Glucocorticoid receptors and glucocorticoid sensitivity of mitogen stimulated and unstimulated human lymphocytes. *Nature*, 267(9):523-525.
48. Spiegel, M. R., *Teoría de pequeñas muestras*. En: *Estadística*. Ed. Mc Graw-Hill. Serie Schaum. 1a. ed. México, 1976. p:188-191.
49. Stites Daniel P. H. H. Fudenberg, John D. Stobo, J. V. Wells. 1985. *Inmunología Básica y Clínica*. Cap. 17; Inmunosupresión, Inmunopotenciación y Medicamentos Antiinflamatorios. Ed. El Manual Moderno. 5 ed., México. Pp. 274-290, 297-298.

50. Sumario: Cólera Porcino. 1975. Secretaría de Agricultura y Ganadería. Noviembre, pag. 3-15.
51. Swanson B. J. and Browing M. C. K., 1983. Immunosuppression with glucocorticoids, a possible immunological explanation for interpatient variation in sensitivity. *J. Royal Society of Medicine.* 76:473-479.
52. Swanson B. J., Morely M. S., Gibbs J. H., Potts R. C., Ilias M. I., Kardijito T., Grange J. M., Stanford J., and Brown R. A. 1986. The cellular response of tuberculosis and leprosy patients and of healthy controls in skin test to "New Tuberculin" and leprosin A. *Clín exp. Immunol.*, 64(3):484-494.
53. The Merck Index. 1976. Monografía 7519, Prednisolone. Publicado por Merck & Co. Inc. NJ. USA. 9th. ed.. P: 998.
54. Tsang S. Y., Garovoy M. R. and Benet L. Z., 1985. Immunosuppressive activity of prednisone and prednisolone and their metabolic interconversion in the mixed lymphocyte reaction. *Int. J. Immunopharmacol.*, 7(5):731-737.
55. Van Loon M., Van der Logt J. T. M., and Van Der Veen J., 1979. Poliovirus-induced suppression of lymphocyte stimulation: a macrophage-mediated effect. *Immunol*, 37:135-143.
56. Wainberg M. A. and Israel E., 1979. Viral inhibition of lymphocyte mitogenesis: I. Evidence for the nonspecificity of the effect. *J. Immunol.*, 124(1):64-70.

57. Wainberg M. A., Vydellingum S. and Margolese R. G., 1983. Viral inhibition of lymphocyte mitogenesis: Interference With the synthesis of functionally active T cell growth factor (TCGF) activity and reversal of inhibition by the addition of same. *J. Immunol.* 130(5):2372-2378.
58. Weston W. L., Claman N. H. and Krueger G. G., 1973. Site of action of cortisol in cellular immunity. *J. Immunol.*, 110(3):880-883.
59. Yu D. T., Clememts P. J., Paulus H. E., Peter J.B., Levy J., and Barnett E. V., 1974. Human lymphocyte subpopulations: Effect of corticosteroids. *J. Clin. Invest.*, 53: 563-571.

CONCLUSIONES