

280
2es.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

APLICACION DE LA PRUEBA DE SERONEUTRALIZACION
CONTRA EL VIRUS DE LA FIEBRE PORCINA CLASICA EN
CERDOS SUSCEPTIBLES QUE COHABITARON O INGIRIERON
MEDULA OSEA DE CERDOS SOBREVIVIENTES A LA PRUEBA
DE POTENCIA.

TESIS PRESENTADA ANTE LA
DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DE LA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
PARA LA OBTENCION DEL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
POR

MARIA EDITH ZEPEDA CANSECO

ASESOR : LAURA PATRICIA NOE MARTINEZ



MEXICO, D.F.
1995

FALLA DE ORIGEN



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.

APLICACION DE LA PRUEBA DE SERONEUTRALIZACION CONTRA
EL VIRUS DE LA FIEBRE PORCINA CLASICA EN CERDOS SUS-
CEPTIBLES QUE COHABITARON O INGIRIERON MEDULA OSEA
DE CERDOS SOBREVIVIENTES A LA PRUEBA DE POTENCIA.

TESIS PRESENTADA ANTE LA
DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DE LA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
PARA LA OBTENCION DEL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNIA

POR
MARIA EDITH ZEPEDA CANSECO
ASESOR: LAURA PATRICIA NOE MARTINEZ

MEXICO, D.F.

1995

DEDICATORIA

Muy especialmente

A mi madre y hermana Guille,

A mis demás hermanos:

Celso, Fermín, Ma. Luisa y Guadalupe.

y mis sobrinos: Lupita y José Antonio.

AGRADECIMIENTOS

Especialmente A mi asesora la Dra. Noe por su
paciencia y apoyo.

Al Dr. Barajas por su buena disposición

y a mi demás jurado, Dra. Velázquez,
Dr. Retana y Dr. Basurto.

A todos ustedes un millón de gracias.

C O N T E N I D O

| | Página |
|------------------------------|--------|
| RESUMEN | 1 |
| INTRODUCCION | 2 |
| MATERIAL Y METODOS | 7 |
| RESULTADOS | 14 |
| DISCUSION | 16 |
| CONCLUSIONES | 20 |
| BIBLIOGRAFIA | 21 |
| CUADROS | 26 |

RESUMEN

ZEPEDA CANSECO MA. EDITH. "Aplicación de la prueba de seroneutralización contra el virus de la Fiebre Porcina Clásica en cerdos susceptibles que cohabitaron o ingirieron médula ósea de cerdos sobrevivientes a la prueba de potencia. (Bajo la asesoría de Laura Patricia Noé Martínez).

Para este trabajo se realizaron dos estudios:

En el primero cohabitaron cerdos vacunados contra Fiebre Porcina Clásica (FPC) y desafiados con virus virulento de FPC, con cerdos susceptibles.

En el segundo a cerdos susceptibles se les dió a ingerir médula ósea de cerdos sacrificados que previamente fueron vacunados contra FPC y desafiados con virus virulento de FPC.

El tiempo de observación en ambos fué de 14 días, durante el cual los cerdos susceptibles no presentaron signos clínicos y permanecieron seronegativos a FPC, por medio de la prueba de seroneutralización por interferencia viral.

Como testigo del virus virulento de desafío se dió a ingerir médula ósea, de cerdos testigos muertos por FPC, a cerdos susceptibles y al cuarto día presentaron signos clínicos presumibles de FPC hasta su muerte; se realizó la necropsia y se confirmó el diagnóstico positivo por inmunofluorescencia directa.

Se concluyó que animales debidamente protegidos por la vacunación no albergaron ni eliminaron el virus virulento de desafío.

INTRODUCCION

La fiebre porcina clásica (FPC) es una enfermedad viral altamente infecciosa caracterizada por hemorragias generalizadas, por su rápida difusión, alta morbilidad y mortalidad en piaras susceptibles (5, 7, 10, 17, 23). La enfermedad afecta exclusivamente al ganado porcino, se transmite por contacto directo e indirecto por medios mecánicos así como animales portadores.

El virus se elimina a través de heces, orina, secreciones oculares y de fetos infectados (23, 33). La existencia de la FPC en México data de 1886-1887. El virus pertenece a la familia Flaviviridae, género pestivirus, está estrechamente relacionado con el virus de la Diarrea Viral Bovina (DVB) ya que ambos comparten un antígeno soluble (7,9, 10, 15, 16, 23, 31, 35, 36).

Resiste por largos periodos en desperdicios de cerdos infectados. En sangre desfibrinada es únicamente inactivado después de 30 minutos a 69° C ó 1 hora a 66° C (1, 9, 21). La exposición de jamones a 71° C durante 1 minuto y 65° C durante 90 minutos destruye al virus. Con frecuencia el sitio de persistencia es la médula ósea (9, 21).

El virus puede resistir los procesos y permanecer activo en la carne de conserva salada, congelada y ahumada. Se han registrado casos de resistencia del virus por un mes en la carne y de dos meses en la médula ósea del jamón curado;

también se ha informado su persistencia en carnes congeladas después de 4 años. Se conserva durante 4 días en los órganos en descomposición y durante 15 días en la sangre y médula ósea de cadáveres (5, 9, 14, 16).

Algunos países han quedado libres de esta enfermedad (5, 7, 9, 21, 27, 33). En México la situación de la FPC de acuerdo a la Campaña Nacional se considera de la siguiente manera: Zonas libres: Baja California Norte y Sur, Sonora, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, Sinaloa y Yucatán; Zonas en erradicación: Durango y Quintana Roo; Zonas en control: Campeche, Jalisco, Guanajuato, Michoacán, Querétaro, Edo. de México, Hidalgo, D.F., Morelos, Puebla, Tlaxcala, Nayarit, San Luis Potosí, Veracruz, Tabasco, Chiapas, Oaxaca, Aguascalientes, Colima, Zacatecas y Guerrero. (30).

En forma general se sabe que el animal susceptible se infecta por vía respiratoria superior y vía digestiva, replicándose el virus en tonsilas, pasa a linfa, invade tejido linfo-reticular profundo desde donde busca drenar a los nódulos regionales provocando posteriormente una viremia y replicándose en los endotelios vasculares (capilares) (2, 4, 5, 8, 21, 22, 33, 34, 37).

Los principales signos son: anorexia, debilidad, fiebre de más de 42° C, conjuntivitis, constipación seguida de diarrea, vómito, convulsiones seguidas por la muerte (4, 7, 12, 17, 21, 24, 29).

Las lesiones principales son: infartos en bazo, nódulos linfoides inflamados y hemorrágicos, tonsilitis que más tarde se vuelve necrótica catarral (4, 12, 21, 22, 24, 29).

Debido a las pérdidas económicas que ocasiona esta enfermedad se estableció una campaña de control y erradicación (6, 7, 16, 20,). En México la vacunación es el sistema de control más utilizado. Los biológicos elaborados con virus activo modificado deben cumplir con los requisitos mínimos establecidos por la Dirección General en Salud Animal de la SAGAR (3, 6, 19, 26).

La vacuna se considera como inocua y segura en un período de observación (21 días), cuando ninguno de los animales inoculados con 5 dosis presenten manifestaciones indeseables locales o generales atribuibles al producto y ninguno de los testigos que cohabitan con los inoculados muestren resultados serológicos que indiquen seroconversión al virus de la FPC (6).

Se define como biológico altamente eficaz a aquel que al diluirlo 1:100 proteja mínimo al 80% de los animales después de ser expuestos con 10^6 DLC 50% de virus virulento de FPC contenidas en 1 ml por vía I.M. y los cerdos testigos enfermen y mueran; el tiempo de duración de esta prueba es de 28 días (6).

HIPOTESIS

Si los animales sobreviven a la prueba de potencia albergan y difunden el virus de desafío, por un mecanismo de persistencia viral y el virus puede resistir diferentes procesos de conservación y puede permanecer activo hasta 15 días en sangre y médula ósea de cadáveres; entonces animales susceptibles que cohabiten o ingieran médula ósea de los mismos enfermarán o tendrán seroconversión.

OBJETIVOS

1.- Detectar el nivel de anticuerpos contra FPC a través de la prueba de seroneutralización por interferencia viral en cerdos susceptibles después de los ensayos: puestos en contacto directo y por la ingestión de la médula ósea.

2.- Observar y registrar signos clínicos y lesiones macroscópicas de la enfermedad en los animales utilizados.

MATERIAL Y METODO

ANIMALES. Se utilizaron 56 cerdos con un peso de 40 Kg, de 4 meses de edad usados en las pruebas de control de calidad para las vacunas contra Fiebre Porcina Clásica (FPC); se utilizaron 24 cerdos incluidos en la prueba de potencia que resultaron con el 100% de protección, 28 cerdos testigos de cohabitación de las pruebas de seguridad e inocuidad denominados cerdos susceptibles y 4 cerdos testigos muertos por FPC de la prueba de potencia.

CEPAS VACUNALES. Se utilizaron las 5 cepas vacunales autorizadas en México y existentes en el mercado y son: Cepa PAV 250 (250 pases en cultivo de línea de células PK15 de riñón de cerdo); Cepa China (virus lapinizado, se prepara en sangre de conejo mezclada con suspensiones de bazo y nódulos mesentéricos del mismo conejo); Cepa PAV 1 (virus activo replicado en cultivo primario de riñón de cerdo); Cepa GPE (se produce en cultivo celular de riñón de cuyes) y Cepa Minessota (elaborada en cultivo celular de riñón de cerdo).

CULTIVO CELULAR. Se utilizaron células de cultivo primario de testículo de cerdo de 20 días de edad usando medio de crecimiento MEM suplementado con 10% de suero fetal bovino o de cabra, 2% de antibiótico (penicilina-estreptomicina), 1% de L-Glutamina y 0.5% de bicarbonato de sodio.

VIRUS. Para la prueba de seroneutralización por

interferencia viral se utilizaron virus E' (virus de FPC) y virus de Estomatitis Vesicular (VSV), para detectar anticuerpos contra FPC. También se utilizaron virus virulentos de FPC: cepa ALD y cepa Lederle (cepas de desafío utilizadas en las pruebas de potencia) contenidas en sangre desfibrinada de cerdo y almacenadas a -80°C.

Los 28 cerdos susceptibles se sangraron antes de iniciar los ensayos para confirmar que eran negativos a anticuerpos contra FPC por la técnica de seroneutralización por interferencia viral en tubo.

Esta prueba utiliza como virus de desafío un virus citopático (VSV) y se siguió la metodología descrita por Zhimizu, Y. (28) en la cual existe una variante en cuanto al virus de desafío y que consistió en inactivar los sueros a 56° C durante 30 minutos, se hicieron diluciones dobles del suero con medio de dilución (MEM, 5% de suero fetal bovino (SFB) o de cabra y 1% de bicarbonato de sodio) se realizaron 3 diluciones dobles 1:2, 1:4, 1:8, se adicionó 200 DICT50 $\frac{1}{2}$ /0.1 ml de virus E' (no causa efecto citopático) aparte se pusieron testigos de E' (medio de dilución más E') se mezclaron perfectamente todas las diluciones y se pusieron a incubar en baño maría durante 1 h, a 37°C.

Transcurrido el tiempo y ya previamente identificadas las gradillas con tubos del Nº 12 conteniendo monoestrato de cultivo de ST (Testículo de cerdo) de dos días de incubación,

se procedió a retirar el medio de los tubos para que posteriormente se inoculara 0.1 ml de la mezcla suero-virus a dos tubos por dilución.

En el testigo de E se hicieron diluciones decimales y se inoculó 0.1 ml en 4 tubos por dilución (las diluciones son 0, -1, -2, -3). Se dejó una hora a medio ambiente para luego adicionar 0.5 ml de medio de mantenimiento (MEM, 1% de L-Glutamina, 2% de antibiótico, 5% de SFB o de cabra y 2% de bicarbonato de sodio, se taparon con tapones de plástico del Nº0, se incubaron en forma estacionaria 5 días a 37°C.

Al 5° día se realizó el desafío con virus de Estomatitis Vesicular VSV (con efecto citopático). Se adicionó 0.5 ml de medio de mantenimiento a los tubos con 200 DICT 50%/ml de VSV, se pusieron también testigos de VSV (diluciones 0, -1, -2, -3), se taparon los tubos y se pusieron en un cilindro para someterlos a una incubación rotatoria a 37°C, 2-3 días, tiempo en el cual se realizó la lectura a través del microscopio invertido.

Se consideró como positivos a anticuerpos contra FPC cuando hubo presencia de efecto citopático.

Se utilizaron sueros testigos positivos (1:32) estos sueros fueron obtenidos de cerdos previamente inmunizados y fueron titulados por este mismo método y también sueros testigos negativos (0) que fueron sueros de animales que

estaban libres de anticuerpos contra FPC.

Cerdos que cohabitaron. De los 24 cerdos de potencia se utilizaron 10 cerdos, los cuales estuvieron de la siguiente forma: 2 cerdos vacunados con cepa PAV 250; 2 con cepa PAV 1; 2 con cepa China; 2 con cepa Minessota y 2 con cepa GPE, estos cerdos se pusieron a cohabitar con dos cerdos susceptibles por cada cepa vacunal haciendo un total de 10 cerdos susceptibles.

Cada ensayo estuvo en corraletas individuales. A todos los cerdos susceptibles se les tomó la temperatura diariamente una vez al día, se observaron signos clínicos presumibles de FPC tales como: debilidad, fiebre (42°C), conjuntivitis, diarrea, vómito y convulsiones, por un período de 14 días.

A todos los cerdos susceptibles que permanecieron vivos se les realizó una prueba de seroneutralización por interferencia viral y a los que enfermaron o murieron se les realizó la necropsia y el diagnóstico de FPC por inmunofluorescencia directa la cual consistió en: realizar cortes de tonsilas, ganglios y bazo en crióstato de 4-6 micras, los cortes se pusieron en laminillas previamente identificadas, se fijaron en acetona durante 10 minutos en refrigeración, se secaron a medio ambiente, se delimitaron los cortes, se puso el conjugado antigama-globulina marcado con isotiocianato de fluoresceína específico de FPC, se colocó en cámara húmeda durante 1h. a 37°C, se lavó con PBS (solución de fosfato buffer) dos veces

durante 10 minutos, se dejó secar a medio ambiente, se puso una gota de glicerina y se colocó un cubreobjetos y se observó al microscopio de fluorescencia.

Se utilizaron testigos positivos; muestras de cerdos que murieron de FPC y testigos negativos de cerdos libres de FPC.

Cerdos que se les administró médula ósea. De los 24 cerdos de las pruebas de potencia se utilizaron 14 cerdos que fueron sacrificados con pistola de perno oculto. De estos cerdos se obtuvieron los huesos largos; fémur y peroné, se retiró lo más posible los músculos que rodean a estos huesos y se cortaron transversalmente procurando que fuera a la mitad del hueso con una segueta previamente esterilizada en autoclave. Ya cortado el hueso se procedió a extraer la médula ósea con una cucharilla de acero inoxidable y se depositó en cajas de Petri estériles previamente identificadas.

También se utilizaron de los 28 cerdos susceptibles, 14 cerdos que se les administró oralmente la médula ósea de los cerdos sacrificados, esto se realizó de la siguiente forma: a los cerdos susceptibles se les dejó un día sin comer antes del ensayo, esto fue para que la ingestión de la médula ósea fuera sin problemas, por no ser apetecible al cerdo.

La médula ósea fue mezclada con un poco de alimento y fue dividido en partes iguales para cada cerdo quedando de la

siguiente manera: 2 cerdos sacrificados de la cepa vacunal PAV 250 su médula ósea fue ingerida por dos cerdos susceptibles; 2 cerdos sacrificados de la cepa vacunal PAV 1 su médula ósea fue ingerida por 2 cerdos susceptibles; 4 cerdos sacrificados de la cepa China su médula ósea fue ingerida por 4 cerdos susceptibles; 4 cerdos sacrificados de la cepa Minnesota su médula ósea fue ingerida por 4 cerdos susceptibles y dos cerdos sacrificados de la cepa GPE su médula ósea fue ingerida por dos cerdos susceptibles.

Para cada ensayo se alojaron en corraletas individuales, se tomaron temperaturas diariamente una vez al día, se observaron signos clínicos afines a FPC por un período de 14 días.

Todos los animales susceptibles que permanecieron vivos se les realizó la prueba de seroneutralización por interferencia viral y a los que enfermaron o murieron se les realizó la necropsia y el diagnóstico de FPC por inmunofluorescencia directa.

De los 4 cerdos testigos muertos de la prueba de potencia se obtuvo la médula ósea y se les dió a ingerir a 4 cerdos susceptibles (de los 28 cerdos susceptibles) quedando de la siguiente manera: 2 cerdos testigos muertos por la cepa de desafío ALD su médula ósea fue ingerida por 2 cerdos susceptibles y dos cerdos testigos muertos por la cepa de

desafió Lederle su médula ósea fue ingerida por dos cerdos susceptibles.

Se tomaron temperaturas diariamente, una vez al día, se observaron signos clínicos y se realizó la necropsia correspondiente para observar lesiones sugestivas a FPC como son: tonsilitis hemorrágica, nódulos linfoides inflamados y hemorrágicos e infartos en el bazo y se realizó la técnica de inmunofluorescencia directa.

El presente trabajo se desarrolló en el Centro Nacional de Servicios de Diagnóstico en Salud Animal en Santa Ana Tecamac, Estado de México. Todo el material y equipo, así como los animales fueron proporcionados por el mismo centro.

RESULTADOS

Cerdos que cohabitaron. Los 10 cerdos susceptibles que resultaron negativos a anticuerpos contra FPC antes de iniciar la prueba (2 cerdos por cada cepa vacunal) no presentaron ningún signo presumible de FPC y su temperatura permaneció normal (39.5-39.8°C) durante los 14 días de observación, siendo negativos a la prueba de seroneutralización contra FPC. (Cuadro 1).

Cerdos que ingirieron médula ósea. Ninguno de los 14 cerdos susceptibles presentaron signos clínicos de FPC y su temperatura se mantuvo normal (39.5-39.8). (Cuadro 2).

La prueba de seroneutralización de los mismos resultó negativa contra FPC. (Cuadro 2).

De los 4 cerdos susceptibles que ingirieron médula ósea de cerdos testigos muertos en la prueba de potencia (2 cerdos que ingirieron cepa ALD y 2 cerdos que ingirieron cepa Lederle), empezaron a presentar al 4to día de la ingestión incremento en la temperatura (41°C), signos clínicos: anorexia, conjuntivitis, diarrea, debilidad, convulsiones y finalmente murieron. (Cuadro 3).

Se les realizó la necropsia a los 4 cerdos y se encontró los nódulos linfoides mandibulares, mesentéricos e inguinales hemorrágicos y aumentados de tamaño; tonsilas hemorrágicas y

ulceradas; bazo con bordes redondeados e infartos; infartos en la zona cortical de los riñones y pulmones hemorrágicos.

En uno de los cerdos (cepa Lederle) se encontró la mucosa del estómago, en la región fúndica, totalmente hemorrágica.

Se realizó la técnica de inmunofluorescencia directa de nódulos linfoides, bazo y tonsilas para diagnóstico de FPC el cual resultó positivo. (Cuadro 3).

DISCUSION

El interés de este trabajo era saber si los animales que sobrevivieron a las pruebas de potencia, previamente inoculados con una dilución 1/100 de la vacuna y desafiados con 10^6 DIC de virus patógeno podrían ser considerados portadores y eliminadores del virus de desafío después de concluidas las pruebas, porque como ya se mencionó el virus puede permanecer activo hasta 15 días en sangre y médula ósea de cadáveres (5, 9, 14, 16).

Por esta razón el primer ensayo consistió en poner a cohabitar cerdos susceptibles con cerdos de las pruebas de potencia resultando ningún cambio clínico ni serológico a través de la prueba de seroneutralización. Ya que esta técnica detecta hasta cantidades de 50 pg (picogramos) de inmunoglobulinas por lo que se dice que es una prueba muy sensible (18).

Con respecto a los cerdos que cohabitaron en el primer ensayo, Terpstra (32) informa que cerdos que no quedaron debidamente protegidos a la vacunación no resistieron al desafío por lo que enfermaron y eliminaron el virus infectando cerdos que cohabitaron; con esto se puede decir que los cerdos de las pruebas de potencia de este ensayo quedaron debidamente protegidos, no eliminando el virus de desafío y por lo tanto los cerdos susceptibles permanecieron negativos a anticuerpos contra FPC.

El segundo ensayo que consistió en administrar oralmente la médula ósea de cerdos vacunados, desafiados y sacrificados de la prueba de potencia, a cerdos susceptibles para detectar la presencia del virus de desafío, sin obtener ningún cambio clínico ni serológico, indica que aún diluyendo la vacuna dos logaritmos es capaz de proteger a los cerdos y no hay riesgo de que permanezca el virus de desafío, sin embargo habría que probar los lotes de cerdos que obtuvieron un 80% de protección.

Aunque algunos autores indican que cerdos con bajos niveles de anticuerpos maternos inmunizados con una dosis de 1:100 de vacuna y administrado intramuscularmente fueron efectivamente protegidos al desafío intramuscular de virus virulento (cepa ALD) (3, 8, 13).

Por otro lado Lai (13) indica que hay replicación viral del virus de desafío en cerdos con poco o parcial grado de inmunidad después del desafío.

Roitt (25) señala que debido a la liberación de antígeno que normalmente no llega a ponerse en contacto con el sistema inmune y que por lo tanto no es capaz de generar la producción de anticuerpos, se procedió a dar a ingerir médula ósea de cerdos testigos muertos por FPC a cerdos susceptibles confirmando con esto que el virus se encontraba en la médula ósea y que a su vez fue capaz de producir enfermedad y finalmente la muerte.

Por otra parte la utilización de la técnica de

seroneutralización por interferencia viral brinda resultados satisfactorios y confiables en cuanto a la detección de anticuerpos ya que como se dijo anteriormente detecta pequeñas cantidades de inmunoglobulinas.

Otros autores demuestran que el virus FPC puede existir en lengua y piel de cerdos que no fueron debidamente protegidos (11, 23, 27).

Se informa también que la cantidad de virus es importante ya que de esto depende que sea capaz de infectar a cerdos susceptibles (32).

En México el estudio de las 5 cepas vacunales que se usan en la porcicultura, demuestra que son biológicos de alta confiabilidad siempre y cuando se manejen en condiciones adecuadas (por ejemplo la cadena fría) y que son capaces de estimular el sistema inmune competente, capaz de producir los anticuerpos neutralizantes del virus patógeno con el que se desafían en las pruebas de potencia que se establecen en los requisitos mínimos de la DGSA-SAGAR.

Sugiriendo con esto realizar estudios similares a los lotes vacunales que se aprueban con el 80% de protección.

Asimismo se puede realizar la búsqueda más detallada del virus virulento de desafío utilizando microscopía electrónica

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

19

y aislamiento a diferentes tiempos después del desafío y en diferentes órganos.

CONCLUSIONES

Se confirma entonces que el virus virulento de desafío utilizado en las pruebas de potencia de las vacunas contra Fiebre Porcina Clásica, no permanece ni se elimina a través de los cerdos susceptibles utilizados en este trabajo, donde no presentaron signos ni serología positiva a FPC.

BIBLIOGRAFIA

1. Andrewes, S., Pereira, H.G. and Wildy, P.: Viruses of vertebrates. 4th ed.. Bailliere Tindall, Inglaterra, 1978.
2. Biront, P., Leunen, J., Depierreux, R., Vandeveld, A., Pastoret, P. P. and Dewaele, A.: La peste porcine classique: diagnostic, transmission et prophylaxie. Ann. Med. Vet., **127**: 547-563 (1983).
3. Biront, P. and Leunen, J.: Inhibition of virus replication in the tonsils of pigs previously vaccinated with a chinese strain vaccine and challenged oronasally with a virulent strain of classical swine fever virus. Vet. Microbiol., **14**: 105-113 (1987).
4. Dahle, J., Moennig, V., Coulibaly, Z. O. C. and Liess, B.: Clinical, post mortem and virological findings after simultaneous inoculation of pigs with hog cholera and bovine viral diarrhoea virus. J. Vet. Med. B., **38**: 764-772 (1991).
5. Dahle, J. and Liess, B.: A review on classical swine fever infections in pigs: epizootiology, clinical disease and pathology. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis., **15**: 203-211 (1992).
6. Dirección General de Salud Animal SARH. Requisitos mínimos de los productos biológicos de los porcinos. México 1990.
7. Fenner, F., Bachmann, A.P., Paul, E., Gibbs, J., Murphy, A. and Studdert, J.M., White, O.D.: Togaviridae and Flaviviridae. In: Veterinary Virology. 2th ed.. Academic Press, Inc. EUA 1993.

8. Ferrari, M.: A tissue culture vaccine with lapinized chinese (LC) strain of hog cholera virus (HCV). Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis., **15**: 221-228 (1992).
9. Harkness, W. J.: Classical swine fever and its diagnosis: a current view. Vet. Rec., **116**: 288-293 (1985).
10. Hone, J., Pech, R. and Yip, P.: Estimation of the dynamics and rate of transmission of classical swine fever (hog cholera) in wild pigs. Epidemiol. Infect., **108**: 377-386 (1992).
11. Kamijo, Y., Ohkuma, S.I., Shimizu, M. and Shimizu, Y.: Differences in pathogenicity and antigenicity among hog cholera virus strains. Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart., **17**: 133-140 (1977).
12. Kamolsiriprichaiporn, S., Hooper, T.P., Morrissy, J. C. and Westbury, A. H.: A comparison of the pathogenicity of two strains of hog cholera virus. 1. Clinical and pathological studies. Aust. Vet. J., **69**: 240-248 (1992).
13. Lai, S.-S. and Ho. C.-W.: Experimental superinfection of hog cholera virus in immunized pigs. J. Chinese Soc. Vet. Sci., **12**: 25-29 (1986).
14. Liess, B.: Persistent infections of hog cholera: a review. Prev. Vet. Med., **2**: 109-113 (1984).
15. Moennig, V.: Pestiviruses: a review. Vet. Microbiol., **23**: 35-55 (1990).
16. Moennig, V.: The hog cholera virus. Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis., **15**: 189-201 (1992).

17. Moennig, V. and Plagemann, W.G.P.: The pestiviruses. Adv. Virus Res., 41: 53-98 (1992).
18. Morilla, G.A.: Introducción a las pruebas de Inmunodiagnóstico. En: Manual de Inmunología. 1a. ed. Diana, México, 1986
19. Morilla, G. A.: Conceptos sobre la inmunización contra el Cólera Porcino en México. Ciencia Veterinaria, 5: 119-141 (1991).
20. Morilla, G. A.: Control y erradicación de la Fiebre Porcina Clásica. Ciencia Veterinaria, 6: 173-206 (1994).
21. Oirschot, V.J.T.: Hog Cholera in Disease of swine. 7th ed. Iowa State University Press. Ames Iowa U.S.A.
22. Okaniwa, A., Nakagawa, M., Shimizu, Y. and Furuuchi, S.: Lesions in swine inoculated with attenuated hog cholera virus. Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart., 9: 92-103 (1969).
23. Pan, C. I., Huang, S. T. et al: The skin, tongue, and brain as favorable organs for hog cholera diagnosis by immunofluorescence. Arch. Virol., 131: 475-481 (1993).
24. Pearson, E. J.: Hog cholera diagnostic techniques. Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis., 15: 213-219 (1992).
25. Roitt, M.I.: Immunity to infection. In: Essential immunology. 8th ed. Blackwell Scientific Publications. London Edinburgh Boston. 1994.
26. Sasahara, J.: Hog cholera: Diagnosis and prophylaxis. Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart., 10: 57-81 (1970).

27. Shannon, D.A., Morrissy, C., Mackintosh, G.S. and Westbury, A. H.: Detection of hog cholera virus antigens in experimentally infected pigs using an antigen-capture ELISA. Vet. Microbiol., **14**: 233-248 (1993).
28. Shimizu, Y., Furuuchi, S., Kumagai, T. and Sasahara, J.: A mutant of hog cholera virus inducing interference in swine testicle cell cultures. Am. J. Vet. Res., **31**: 1787-1794 (1970).
29. State Veterinary Service: Classical swine fever. Vet. Rec., **113**: (1983).
30. Subsecretaria de Ganaderia. SARH. Informe anual de la Dirección General de Salud Animal. 1995.
31. Susa, M., König, M., Saalmüller, A., Reddehase, J. M. and Thiel, J-H.: Pathogenesis of classical swine fever: B-Lymphocyte deficiency caused by hog cholera virus. J. Virol., **66**: 1171-1175 (1992).
32. Terpstra, C. and Wensvoort, G.: The protective value of vaccine-induced neutralising antibody titres in swine fever. Vet. Microbiol., **16**: 123-128 (1988).
33. Terpstra, C.: Hog Cholera: an update of present knowledge. Br. Vet. J., **147**: 397-406 (1991).
34. Trautwein, G.: Pathology and pathogenesis of the disease. In: Classical swine fever and related viral infections. Edited by B. Liess. Martinus Nijhoff Publishing. Boston 1988.

35. Wensvoort, G., Terpstra, C. and Kluiver, P.E.: Characterization of porcine and some ruminant pestiviruses by cross-neutralization. Vet. Microbiol., **20**: 291-306 (1989).
36. Wensvoort, G., Terpstra, C., Dekluyver, P.E., Kragten, C. and Warnaar, C. J.: Antigenic differentiation of pestivirus strains with monoclonal antibodies against hog cholera virus. Vet. Microbiol., **21**: 9-20 (1989).
37. Wood, L., Brockman, S., Harkness, W. J. and Edwards, S.: Classical swine fever: virulence and tissue distribution of a 1986 English isolate in pigs. Vet. Rec., **122**: 391-394 (1988).

TESIS SIN PAGINACION

COMPLETA LA INFORMACION

CUADRO 1. Cerdos vacunados y desafiados contra FPC* que cohabitaron con cerdos susceptibles y no presentaron signos clínicos ni seroconversión.

| CEPA VACUNAL | CANTIDAD DE CERDOS VAC. Y DESAFIADOS | CANTIDAD DE CERDOS QUE COHABITARON | SIGNOS DE FPC EN CERDOS QUE COHABITARON | DETECCION DE ANTICUERPOS POR SUERO-NEUTRALIZACION |
|--------------|--------------------------------------|------------------------------------|---|---|
| PAV 1 | 2 | 2 | NO PRESENTARON | - |
| CHINA | 2 | 2 | NO PRESENTARON | - |
| MINNES | 2 | 2 | NO PRESENTARON | - |
| GPE | 2 | 2 | NO PRESENTARON | - |
| PAV 250 | 2 | 2 | NO PRESENTARON | - |

NOTA: * Fiebre Porcina Clásica.

CUADRO 2. Cerdos susceptibles que no mostraron signos clínicos ni seroconversión después de consumir médula ósea (M.O.) de cerdos vacunados, desafiados contra FPC* y sacrificados.

| CEPA VACUNAL | CANTIDAD DE CERDOS VAC. | CANTIDAD DE CERDOS SUSCEP. | SIGNOS CLINICOS EN CERDOS SUSCEP. | DETECCION DE ANTICUERPOS |
|--------------|-------------------------|--|--|---|
| | DESAFIADOS SACRIFICADOS | QUE INGIRIERON M.O. DE CERDOS SACRIFICADOS | QUE INGIRIERON M.O. DE LOS CERDOS SACRIFICADOS | POR SUERO- NEUTRALIZACION DE LOS CERDOS SUSCEP. |
| PAV 1 | 2 | 2 | NO PRESENTARON | - |
| CHINA | 4 | 4 | NO PRESENTARON | - |
| MINNES | 4 | 4 | NO PRESENTARON | - |
| GPE | 2 | 2 | NO PRESENTARON | - |
| PAV 250 | 2 | 2 | NO PRESENTARON | - |

NOTA: * Fiebre Porcina Clásica.

CUADRO 3. Cerdos desafiados muertos por FPC* cuya médula ósea (M.O.) fue ingerida por cerdos susceptibles que mostraron signos clínicos, lesiones de FPC e inmunofluorescencia positiva a FPC.

| CEPA VACUNAL | CANTIDAD DE CERDOS DESAFIADOS Y MUERTOS POR V V FPC | CANTIDAD DE CERDOS SUSCEPTIBLES QUE INGERIERON M.O DE CERDOS DESAFIADOS Y MUERTOS POR V V FPC | SIGNOS CLINICOS | LESIONES FPC | Dx FPC INMUNO-FLUORES |
|--------------|---|---|-----------------|--------------|-----------------------|
| ALD | 2 | 2 | SI PRESENTO | + | + |
| LEDERLE | 2 | 2 | SI PRESENTO | + | + |

NOTA: * Fiebre Porcina Clásica.

** Las cepas ALD y Lederle son virus patógenos de FPC (V V FPC).