

CRUCBA

3929
5700-118



BIBLIOTECA CENTRAL

CRAP
BY EL
PODER
MAS
GRANDE
SOBRE
LA
TIERRA

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



BIBLIOTECA CENTRAL

EVALUACION DE LA EFECTIVIDAD DE INMUNOGLOBULINAS
LIOFILIZADAS CONTRA E. COLI COMO MEDIDA PREVENTIVA
DE LA COLIBACILOSIS EN LECHONES RECIEN NACIDOS

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA:

JUAN MARTIN MOJICA HERNANDEZ

GUADALAJARA, JAL., 1990

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

"EVALUACION DE LA EFECTIVIDAD DE INMUNOGLOBULINAS LIOFILIZADAS CONTRA E. COLI COMO MEDIDA - PREVENTIVA DE LA COLIBACILOSIS EN LECHONES RECIENTES NACIDOS".

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE MEDICO VETERINARIO
Y ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

JUAN MARTIN MOJICA HERNANDEZ

ASESORES: Q.F.B. SILVIA MEJIA ARREGUIN
DR. CARLOS ANDRADE MENA.

Guadalajara, Jal.,

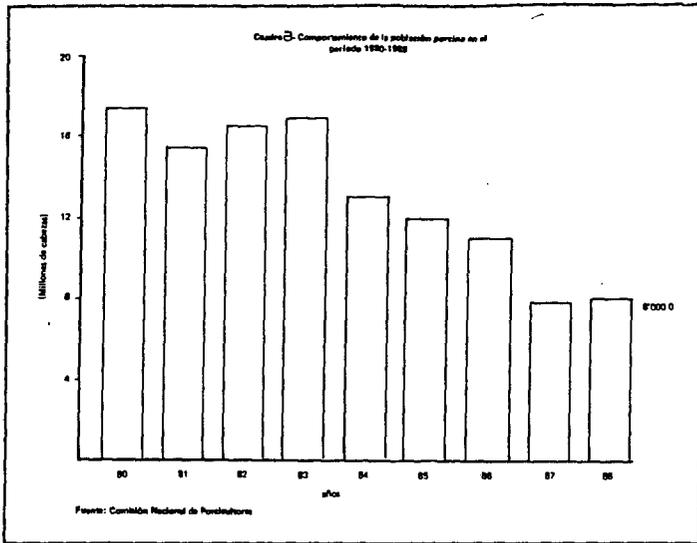
I N D I C E

	PAG
1. INTRODUCCION.....	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	6
3. JUSTIFICACION.....	7
4. OBJETIVOS.....	8
5. HIPOTESIS.....	9
6. MATERIAL Y METODOS.....	10
7. RESULTADOS.....	17
8. DISCUSION.....	37
9. CONCLUSIONES.....	40
10. RESUMEN.....	41
11. BIBLIOGRAFIA.....	43

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

México ha tenido un gran incremento demográfico en los últimos años, esta circunstancia nos debe estimular a incrementar la eficiencia productiva. La principal orientación de la Agricultura mexicana está dirigida a la producción de alimentos básicos (15), sin embargo la existencia de un mercado dinámico de consumo de carne constituye en muchos países una de las fuentes de ingresos más importante de la agricultura (19).

El índice de población de la porcicultura mexicana decayó el 50% durante los primeros 8 años de la década anterior (cuadros a y b). Por otro lado el consumo per-cápita en ese mismo período se ha visto disminuído notablemente al pasar de 18 a 10 kg. (cuadro c) (24). Sin embargo esta industria ocupó el primer lugar en el abasto normal de carne, pese a la reducción del inventario provocado por la contracción en el consumo, la baja rentabilidad, y los problemas sanitarios (9). La higiene veterinaria está encaminada preferentemente a los problemas infecciosos y contagiosos en forma profiláctica (higiene epidemiológica). Los medios preventivos que tienen como finalidad mejorar las condiciones durante el proceso de producción, para un aumento de --



Cuadro b.- Distribución regional de porcinos

Cuenca	Entidades	%
Bajío	Michoacán	33
	Jalisco	
	Guanajuato	
Centro	México	19
	Querétaro	
	Puebla	
	Hidalgo	
Pacífico sur	Guerrero	8
	Oaxaca	
	Chiapas	
Noroeste	Sonora	14
	Sinaloa	
Golfo	Veracruz	7
Otros	19 estados	19
Total		100

Fuente: Unión Nacional de Porcicultores, 1988

Cuadro c.- Consumo de carne de cerdo en México per cápita

Año	Kg/cap.
1980	18.0
1981	18.3
1982	18.5
1983	19.0
1984	19.3
1985	12.5
1986	12.0
1987	11.0
1988	10.0

rendimientos en la industria porcina son: alimentación, genética, instalaciones y definitivamente dentro del manejo, los medios inmuno y quimioprofilácticos (22).

En la porcicultura durante la etapa de lactancia se presenta un grave problema de salud, debida a diarreas causadas principalmente por Escherichia coli E. coli (16), el cual se acentúa en la primera semana de vida del lechón. Esto se debe a que esta bacteria oportunista aprovecha la inmadurez del sistema inmune de los lechones que se manifiesta como una ausencia de anticuerpos específicos (Inmunoglobulinas) (8,14).

Se ha determinado que el lechón empieza a responder contra los gérmenes hasta que cumple los 10 días de vida, sin embargo aún en este momento la respuesta es débil (agammaglobulinemia) y se considera que por lo menos hasta después del destete ó a las 6 semanas de edad, el animal es capaz de defenderse en forma autónoma (3).

Esta agammaglobulinemia transitoria del lechón es el resultado del tipo de placenta que presenta la especie (epitelio coreal) la cual es impermeable a los anticuerpos de la madre (7,8,17 y 23). De tal modo que la única opción de protección del lactante es la inmunidad a través del calos-

tro y leche de la madre, existe un período aproximado de 24 Hrs., después del nacimiento durante el cual la absorción - de inmunoglobulinas por intestino es óptimo (el grado de hi drólisis es menor) (12,14,16) y éstas alcanzan su máxima -- concentración plasmática a las 24 Hrs. (26). La gammaglobu- lina (IgG-IgM IgA), la cual es absorbida de tal manera que- durante las primeras horas de vida el lechón adquiere una - adecuada concentración de IgG e IgM y conforme desaparece - el calostro disminuyen éstos para que posteriormente preva- lezca la IgA (8).

La inmunidad pasiva provoca que el lechón esté prote- gido a partir de anticuerpos preformados, pero éste no es - capaz de producir una cantidad adecuada de anticuerpos a -- partir de una inmunidad activa (Vacunación) (16).

Considerando lo anterior y valorando que el princi- pal agente etiológico de las diarreas en el recién nacido - es E. coli, es necesario obtener un antisuero contra ésta, - respecto a sus antígenos (K 88, K 99, 987 p) ya que esto -- nos dará una especificidad de respuesta inmune y una eleva- da producción de anticuerpos, dado que en las diversas ce- pas de E. coli, no existe inmunidad cruzada entre sí (24).

El presente trabajo está encaminado a valorar la pro

tección obtenida al incrementar la inmunidad pasiva con anticuerpos preformados (suero) obtenidos de animales inmunizados con una bacterina autógena específica (13) de un brote de colibacilosis a diferentes intervalos de tiempo (hiperinmunidad).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Algunos investigadores han encontrado que los serotipos K88, K99, 987P de E. coli son los causantes de más del 90% de los casos de diarrea producida por E. coli en lechones. También se ha encontrado que los cerdos menos afectados pueden llegar a sobrevivir, aunque su crecimiento se verá retrasado al punto de alcanzar 14 Kilogramos menos que el resto de los cerdos al momento de ser destinados al mercado (5).

JUSTIFICACION

Debido a que la lucha contra la colibacilosis a esta do basada a la aplicación de diferentes antibióticos y productos Quimioterapéuticos (21). Se plantea como opción la-administración alterna de calostro e inmunoglobulinas específicas liofilizadas (Gammaglobulina) al nacimiento, para -incrementar la inmunidad pasiva y con éllo los niveles de -anticuerpos circulantes preformados (5,22) del recién nacido.

O B J E T I V O S

- 1.- Valorar la protección que provee la administración oral de diferentes cantidades (mg) de inmunoglobulinas a lechones inmediatamente después -- del nacimiento y antes de ingerir calostro.
- 2.- Valorar clínicamente los lechones tratados con Gammaglobulina durante la primer semana de vida
- 3.- Obtención de Gammaglobulina liofilizada a partir de suero Hipe-Inmune proveniente de cerdos de engorda inmunizados contra E. coli.

H I P O T E S I S

La Administración de Inmuno Globulinas específicas, la ingestión de calostro y leche de la madre incrementarán la concentración de Anticuerpos y con éllo la protección a los lechones recién nacidos contra los Anticuerpos de ---- E. coli disminuyendo la infección entérica por este agente.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizó un lote de 10 cerdos (5 hembras y 5 machos castrados) de raza híbrida York-Duroc de 5.5 meses de edad y con un peso promedio de 90 Kgs., y 6 camadas de lechones recién nacidos, siendo un total de 54 lechones de los cuales se formaron 6 lotes de 9. Los lechones provienen de cerdas multíparas (3 partos) de 180 Kgs. aproximadamente de la granja porcina " La Primavera" en el municipio de Tlaquepaque, Jalisco.

Los cerdos adultos fueron inmunizados con una bacteria de E. coli 12×10^8 bacterias por dosis (elaborada según el método descrito por Juárez Pichardo) (13), aplicada por vía intramuscular a los 30 y 15 días antes del sacrificio. La obtención de sangre de estos cerdos fue por punción en la vena cava anterior previa desinfección del área a razón de 250 ml. promedio por animal, colectándose en frascos estériles y dejándose a temperatura ambiente hasta la formación del coágulo, mismo que fue separado para así centrifugar el suero a 1500 rpm/10 minutos.

Para determinar el título de anticuerpos contra E. coli del suero hiperinmune se realizó la técnica de aglutinación en placa (1,24). Se tomaron con una micropipeta de

20 ult. de suero y se colocaron en un tubo de ensaye, enseguida se tomaron 20 ult de solución fisiológica y se mezclaron con el suero, de ahí se procedió a hacer las diluciones: 1:1-1:50-1:100-1:200-1:400-1:800, cambiando de pipeta en cada dilución. Se tomaron 20 ult de antígeno (E.coli 12×10^8 /ml) (13) y se mezclaron con el suero sin diluir, este mismo procedimiento se llevó a cabo con todas las diluciones. Terminando este paso se incubaron durante 15 minutos a 37°C. Posteriormente se procedió a observar la aglutinación al microscopio de contraste de fases (Carl Zeiss). La determinación del anticuerpo se consideró positiva hasta que se observó una franca aglutinación en el último punto de titulación (1:400).

La separación de las Gammaglobulinas se llevó a cabo por el método de precipitación de Gammaglobulinas con sulfato de amonio según Garvey (9) la cual se describe brevemente:

- 1.- Se utiliza "X" ml. de suero hiperinmune (anti cuerpo) más "X" ml de solución salina amortiguada (PbS) pH 7.2
- 2.- Se precipita con sulfato de Amonio amortiguado - pH 7.2 al 40% en frío volumen a volumen.

- 3.- El sulfato de Amonio se agrega gota a gota con -
agitación continua en frío.
- 4.- Dejar reposar una hora, después de que cae la ú
tima gota del Sulfato de Amonio.
- 5.- Centrifugar en frío a 3500 rpm durante 30 minu -
tos.
- 6.- Decantar el sobrenadante y separar el precipita-
do.
 - a) El sobrenadante se vuelve a precipitar volu-
men a volumen con Sulfato de Amonio.
 - b) El precipitado que se obtiene de la primera-
precipitación se disuelve en una mínima can-
tidad de PbS.
- 7.- El precipitado de la primera y segunda precipita-
ción se juntan en una bolsa de diálisis y se dia-
liza por 48 Hrs. con tres cambios de PbS en cuar-
to frío, con agitación continua, después de dia-
lizar se liofilizó y se determinó la concentra -
ción de protefna.

Para la cuantificación de las proteínas séricas se --
empleó el método de Bradford (2) que consiste en lo siguien-
te:

1.- Preparación del reactivo Bradford (2).

100 mg. de azul brillante de Commasie G-250 se -
disolvieron en 50 ml. de etanol al 95% y se agre-
garon 100 ml. de ácido fosfórico (H₃PO) al 85% -
(p/v) y se aforó a 1 lt.

II.- Desarrollo de la curva patrón.

Se partió de una solución original, que contenía
5 mg/ml de albúmina sérica bovina (en solución -
fisiológica) y se hicieron las siguientes dilu -
ciones a las que se les adicionaron 2 ml de Reac-
tivo de Bradford.

- A. 5 μ l + 45 μ l H₂O
- B. 10 " + 40 " "
- C. 15 " + 35 " "
- D. 20 " + 30 " "
- E. 0 " + 50 " "

III.- Una vez obtenidas las diluciones se midió la den-
sidad óptica a 595 nm (las lecturas se hicieron-
en un lapso de tiempo entre 2 minutos y 1 hora -

después de agregar reactivo de Bradford).

IV.- Finalmente se midió la D.O. de nuestra muestra que contenía la Gammaglobulina y así obtuvimos la concentración de protefna de nuestra muestra, confrontándola con la curva patrón.

Para la conservación de las Gammaglobulinas se utilizó la técnica de liofilización, ésta se realizó en una liofilizadora (Freeze Dryer 3, Labconco) (10).

Las Gammaglobulinas se depositaron en un matraz Kitasato, sumergiendo éste en un recipiente que contenía hielo seco y acetona, congelando las Gammaglobulinas en la pared interna del matraz, formando así una escarcha. Terminando esto se conectó el matraz a la liofilizadora permaneciendo ahí 36 horas. Una vez liofilizado el material fue extraído y se depositó en un matraz Erlen Meyer, posteriormente se pesaron en una balanza analítica las 6 diferentes dosis depositándolas en frascos de cristal de 10 ml. sellándolos y se mantuvieron a -4°C hasta su utilización.

A los 6 lotes de lechones les correspondió una diferente dosis quedando de la siguiente manera:

- Tx 1. 0.050 gr/dosis/lechón.
- Tx. 2. 0.100 gr/dosis/lechón.
- Tx. 3. 0.150 gr/dosis/lechón.
- Tx. 4. 0.200 gr/dosis/lechón.
- Tx. 5. 0.250 gr/dosis/lechón.
- Tx. 6. 0.300 gr/dosis/lechón.

Quedando en cada uno de los lotes 3 lechones como -- testigos (estos lechones fueron escogidos al azar).

Al momento del parto se reconstituyó la Gammaglobulina con solución salina fisiológica al 0.9% a razón de 1 ml/dosis.

Al nacimiento de los lechones se les administró inmediatamente por vía oral la dosis respectiva, una vez recibida la dosis fueron colocadas en una caja de cartón hasta el término del parto. Posteriormente se les permitió la ingestión de calostro a libre acceso. Este procedimiento se llevó a cabo en todos los partos.

A todos los lechones tanto tratados como testigos se les aplicó 100 mg de hierro dextran* al 3er. y 5to. día de edad vía intramuscular, siendo este medicamento el único administrado durante toda la lactancia.

Como único manejo a las cerdas se les administró 150-ml. de furacín solución ** vía intrauterina, dosis única.

La evaluación clínica se elaboró de la siguiente manera:

La diarrea se calificó en una escala de:

0 (heces normales) a 4 (severa y muy diluida), y la -deshidratación en escala de 0 (normal) a 3 (severa) tomando en cuenta la elasticidad de la piel, hundimiento de ojos y vivacidad.

Para la evaluación del cuadro clínico se utilizó la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Suma de diarreas (grados)} + \text{Suma de deshidrataciones (grados)}}{\text{Número de observaciones} \times \text{número de animales de prueba}} \times 100 \text{ Cuadro Clínico}$$

(4)

* Rebloclol de laboratorios SQUIBB

** Furacin solución de laboratorios NORWICH EATON

R E S U L T A D O S

La gráfica No. 1 muestra los resultados de la concentración de proteínas, obtenida mediante el método de "Bradford"

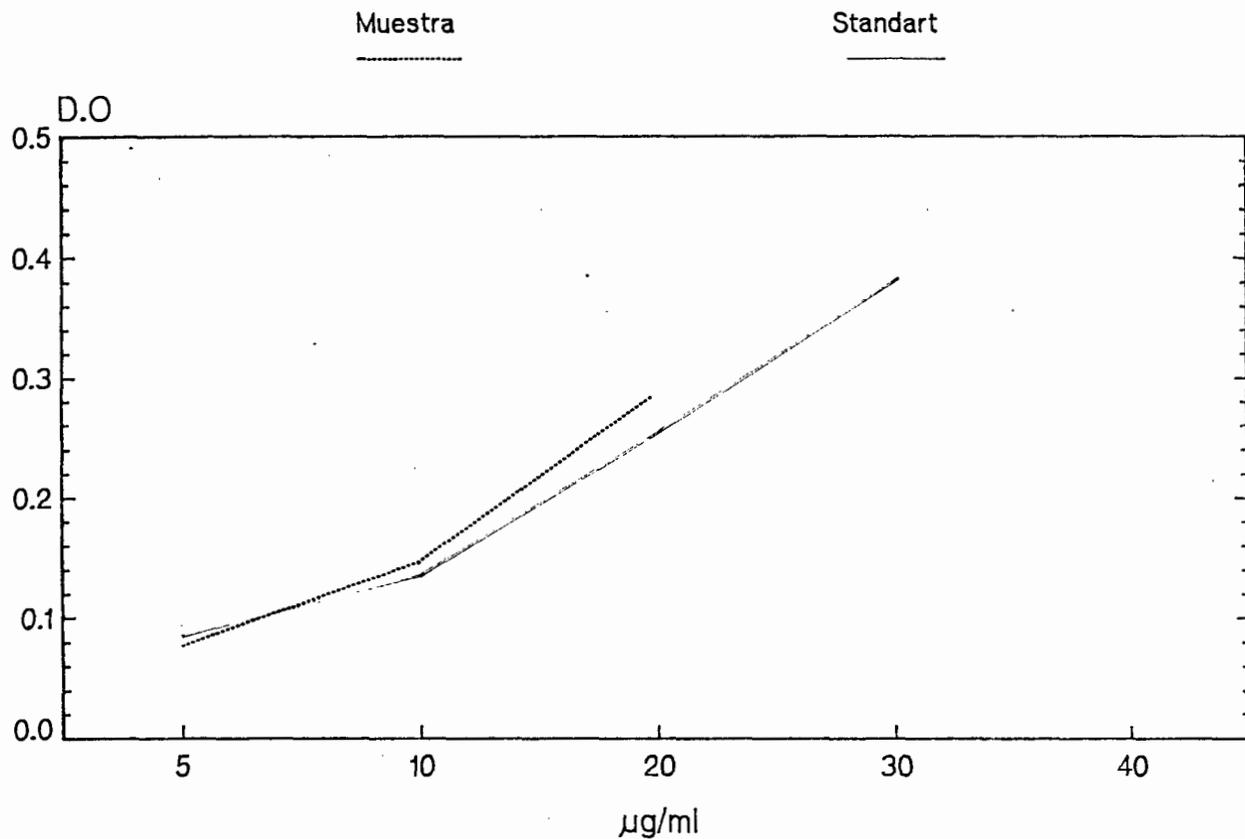
La concentración de nuestra muestra en proteína es similar al estandar establecido con el empleo de la Albúmina - Sérica bovina.

El cuadro # 1 nos muestra los resultados de la valoración del cuadro clínico y el número de afectados.

El tratamiento No. 1 con la administración de 0.050 - grs. de Igs observamos que pese a que todos los animales de ambos grupos padecieron diarrea, los resultados muestran diferencia significativa en cuanto al cuadro clínico siendo el 28.5% para experimental y 71.4% para el grupo control, éstos es debido a los diferentes grados de diarrea y deshidrata -- ción.

El tratamiento No. 2 con la administración de 0.100 - grs. de Igs. muestra que el grupo control no sufrió el padecimiento, por lo tanto el porcentaje de cuadro clínico es de 0 (cero) mientras que el grupo experimental presentó diarrea

CONC. "GAMMA GLOBULINAS" EN SUERO DE CERDOS ADULTOS
INMUNIZADOS VS. ESCHERICHIA COLI OBTENIDA MEDIANTE EL METODO "BRADFORD"



**CUADRO CLINICO (%) DE LECHONES DIARREICOS
DURANTE LA PRIMERA SEMANA DE VIDA
POST-TRATAMIENTO**

No. Tx	AFECTADOS %	CUADRO CLINICO
1 (0.050 gr.)	6/6 (100) 3/3 (100)	28.5 71.4
2 (0.100 gr.)	1/6 (16.6) - (-)	14.2 -
3 (0.150 gr.)	4/6 (66.6) 3/3 (100)	16.6 85.7
4 (0.200 gr.)	3/6 (50) 2/3 (66.6)	14.2 47.6
5 (0.250 gr.)	1/6 (16.6) - (-)	4.7 -
6 (0.300 gr.)	2/6 (33.3) 1/3 (33.3)	9.5 14.2

● EXPERIMENTAL

◻ CONTROL

CUADRO No. 1

pero con un porcentaje de cuadro clínico efectivo, 14.2%.

En el tratamiento No. 3 con 0.150 grs. de Igs. Administradas se acentúa el porcentaje del cuadro clínico en el grupo control, llegando al 85.7% debido a que todos los animales padecieron el problema. El grupo experimental tuvo como resultado el 16.6%.

La administración de 0.200 grs. de Igs. en el tratamiento No. 4 la mitad del grupo experimental fue afectado, sin embargo obtuvimos un 14.2% en el cuadro clínico, resultado similar al tratamiento No. 2. En cuanto al grupo control observamos que los resultados de éstos siguen elevados, en este tratamiento fue de 47.6%.

El tratamiento No. 5, con la administración de 0.250-grs. de Igs. observamos que el grupo control no fue afectado y el resultado es de 0 (cero). En el grupo experimental observamos un porcentaje de cuadro clínico bajo, siendo éste de 4.7%.

En el tratamiento No. 6, con la administración de 0.300 grs. de Igs. nos muestra que el porcentaje de animales afectado fue igual para ámbos grupos (experimental y control), obteniendo los siguientes resultados; 9.5% para el grupo ex-

perimental y 14.2% para el grupo testigo.

El cuadro # 2 nos muestra los grados de diarrea, deshidratación y duración de la diarrea, teniendo estos resultados dentro de los paréntesis y fuera de los mismos nos indican el número de animales afectados, obteniendo los siguientes resultados.

En el tratamiento No. 1 el grado de diarrea en el grupo experimental afectó a 6 lechones, uno con grado 4 y cinco con grado 1, de éstos uno tuvo una deshidratación de grado 3. De los seis diarréicos cuatro duraron 1 día; uno 2 días y -- uno 3 días. El grupo testigo manifestó diarrea de grado 3, con 2 grados de deshidratación y una duración de 3 días.

En el tratamiento No. 2 en el grupo control un lechón manifestó diarrea de grado 4, con 2 grados de deshidratación y 2 días de duración. El grupo testigo no fue afectado.

En el grupo experimental del tratamiento No. 3 padecieron la diarrea tres animales, uno con grado 1; uno con -- grado 2 y uno con grado 4, con una deshidratación de grado 1 para dos lechones y un lechón con grado 3. La duración de la diarrea fue de 2 días para dos lechones y 3 días para un lechón. El grupo testigo fue afectado totalmente, con grado

CLASIFICACION Y DURACION DE LAS DIARREAS

No. Tx	TIPO DE DIARREA	GRADO DE DESHIDRATACION	DURACION/DIAS
1 (0.050 gr.)	1(4);5(1) 3(3)	1(3) 3(2)	4(1);1(2);1(3) 3(3)
2 (0.100 gr.)	1(4) -	1(2) -	1(2) -
3 (0.150 gr.)	1(1);1(2);1(4) 3(3)	2(1);1(3) 3(4)	2(2);1(3) 3(4)
4 (0.200 gr.)	3(1) 2(3)	3(1) 2(2)	3(1) 2(2)
5 (0.250 gr.)	1(1) -	1(1) -	1(1) -
6 (0.300 gr.)	2(1) 1(2)	2(1) 1(1)	2(1) 1(1)

- EXPERIMENTAL

- CONTROL

de diarrea y deshidratación 3 y con una duración de 3 días.

El tratamiento No. 4 nos muestra que en el grupo experimental tres lechones fueron afectados con grado de diarrea 1, grado de deshidratación 1 y con duración de 1 día. El grupo control dos animales fueron afectados con grado de diarrea 3 y deshidratación de grado 2, con una duración de 2 días.

El tratamiento No. 5 nos muestra que un solo animal del grupo experimental fue afectado y tuvo diarrea y deshidratación de grado 1 y una duración de 1 día. El grupo testigo no fue afectado.

En el tratamiento No. 6 dos lechones fueron afectados con grado, 1 tanto de diarrea como deshidratación, y con 1 día de duración en el grupo experimental. En el grupo testigo fue afectado un animal solamente con grado 2 de diarrea, 1 grado de deshidratación y duración de 1 día.

El cuadro # 3 nos muestra el grado de diarrea evaluada estadísticamente con el método χ^2 .

En el tratamiento No. 1 observamos que todos los animales fueron afectados. En el grupo experimental hubo cinco

GRADO DE DIARREA EVALUADA ESTADISTICAMENTE CON EL METODO DE χ^2

Tx 1 (0.050 gr.) $\chi^2_{(2)} = 4.658$ N.S.

TIPO DE DIARREA	0	1	2	3	4	
GRUPO EXPERIM.	0	5 / 3.3	0	0 / 2	1 / 0.7	6
GRUPO CONTROL	0	0 / 1.7	0	3 / 1	0 / 0.7	3
	0	5	0	3	1	9

Tx 4 (0.200 gr.) $\chi^2_{(2)} = 3.282$ N.S.

TIPO DE DIARREA	0	1	2	3	4	
GRUPO EXPERIM.	3 / 2.7	3 / 2	0	0 / 1.3	0	6
GRUPO CONTROL	1 / 1.3	0 / 1	0	2 / 0.7	0	3
	4	3	0	2	0	9

Tx 2 (0.100 gr.) $\chi^2_{(1)} = 0$ N.S.

TIPO DE DIARREA	0	1	2	3	4	
GRUPO EXPERIM.	5 / 5.3	0	0	0	1 / 0.7	6
GRUPO CONTROL	3 / 2.7	0	0	0	0 / 0.3	3
	8	0	0	0	1	9

Tx 5 (0.250 gr.) $\chi^2_{(1)} = 0$ N.S.

TIPO DE DIARREA	0	1	2	3	4	
GRUPO EXPERIM.	5 / 5.3	1 / 0.7	0	0	0	6
GRUPO CONTROL	3 / 2.7	0 / 0.3	0	0	0	3
	8	1	0	0	0	9

Tx 3 (0.150 gr.) $\chi^2_{(1)} = 9.00$ N.S.

TIPO DE DIARREA	0	1	2	3	4	
GRUPO EXPERIM.	3 / 2	1 / 0.7	1 / 0.7	0 / 2	1 / 0.7	6
GRUPO CONTROL	0 / 1	0 / 0.3	0 / 0.3	3 / 1	0 / 0.3	3
	2	1	1	3	1	9

Tx 6 (0.300 gr.) $\chi^2_{(1)} = 0.088$ N.S.

TIPO DE DIARREA	0	1	2	3	4	
GRUPO EXPERIM.	4 / 4	2 / 1.3	0	0	0	6
GRUPO CONTROL	2 / 2	0 / 0.7	1	0	0	3
	6	2	1	3	0	9

lechones con 1 grado de diarrea y uno con grado 4. El grupo control mostró el 3er. grado de diarrea.

El tratamiento No. 2 al igual que el tratamiento No. 1, en el grupo experimental hubo un lechón con diarrea de grado 4 y el resto del grupo no tuvo el padecimiento, como tampoco el grupo control.

En el tratamiento No. 3 hubo tres casos de diarrea en el grupo experimental, con los grados 1, 2 y 4. Mientras que los del grupo control tuvieron diarrea de grado 3.

En el tratamiento No. 4 también fueron afectados tres lechones, pero con grado diarréico 1, en el grupo experimental y dos con grado 3 en el grupo control.

Tratamiento No. 5. En este tratamiento el grupo experimental resultó solamente un lechón afectado con 1 grado de diarrea. El grupo control no tuvo el padecimiento.

Tratamiento No. 6. En este último tratamiento dos lechones del grupo experimental resultaron afectados y con grado de diarrea 1. En el grupo control hubo un lechón con 1 grado de diarrea.

Al ser evaluados todos los tratamientos con el método antes mencionado, no hubo significancia estadística.

El cuadro # 4 nos muestra el grado de deshidratación evaluada con el método de χ^2

En el tratamiento No. 1 un lechón del grupo experimental tuvo deshidratación del grado 3. Mientras que todo el grupo control sufrió una deshidratación del grado 2.

En el grupo experimental del tratamiento No. 2 un lechón manifestó la deshidratación con grado 2 y cinco presentaron el síntoma.

En el tratamiento No. 3, tres lechones fueron afectados del grupo experimental y todo el grupo control también fue afectado. En el primero dos lechones con deshidratación de grado 1 y uno con grado 3, el segundo presentó la deshidratación del grado 3.

Tratamiento No. 4, en este tratamiento como en el anterior, el grupo experimental es afectado en un 50% pero con grado de deshidratación 1. En el grupo control solamente un lechón no sufrió la deshidratación, el resto del grupo tuvo una deshidratación con grado 2.

GRADO DE DESHIDRATACION EVALUADA ESTADISTICAMENTE CON EL METODO DE χ^2

Tx 1 (0.050 gr.) $\chi^2_{(2)} = 4.5043$ N.S.

GRADO DE DESHIDRATACION	0	1	2	3	
GRUPO EXPERIMENTAL	5 / 3.3	0	0 / 1	1 / 0.7	6
GRUPO CONTROL	0 / 1.7	0	3 / 2	0 / 0.3	3
	5	0	3	1	9

Tx 4 (0.200 gr.) $\chi^2_{(2)} = 5.3168$ N.S.

GRADO DE DESHIDRATACION	0	1	2	3	
GRUPO EXPERIMENTAL	3 / 2.7	3 / 2	0 / 1.3	0	6
GRUPO CONTROL	1 / 1.3	0 / 1	2 / 0.7	0	3
	4	3	2	0	9

Tx 2 (0.100 gr.) $\chi^2_{(1)} = 0$ N.S.

GRADO DE DESHIDRATACION	0	1	2	3	
GRUPO EXPERIMENTAL	5 / 5.3	0	1 / 0.7	0	6
GRUPO CONTROL	3 / 2.7	0	0 / 0.3	0	3
	8	0	1	0	9

Tx 5 (0.250 gr.) $\chi^2_{(1)} = 0.4789$ N.S.

GRADO DE DESHIDRATACION	0	1	2	3	
GRUPO EXPERIMENTAL	5 / 5.3	1 / 0.7	0	0	6
GRUPO CONTROL	3 / 2.7	0 / 0.3	0	0	3
	8	1	0	0	9

Tx 3 (0.150 gr.) $\chi^2_{(1)} = 5.8704$ N.S.

GRADO DE DESHIDRATACION	0	1	2	3	
GRUPO EXPERIMENTAL	3 / 2	2 / 1.3	0	1 / 2.7	6
GRUPO CONTROL	0 / 1	0 / 0.7	0	3 / 1.3	3
	3	2	0	4	9

Tx 6 (0.300 gr.) $\chi^2_{(1)} = 0$ N.S.

GRADO DE DESHIDRATACION	0	1	2	3	
GRUPO EXPERIMENTAL	4 / 4	2 / 2	0	0	6
GRUPO CONTROL	2 / 2	1 / 1	0	0	3
	6	3	0	0	9

Los resultados del tratamiento No. 5 muestran que un solo lechón del grupo experimental sufrió la deshidratación con grado 1. El grupo control no presentó el síntoma.

El tratamiento No. 6 presentó en el grupo experimental dos lechones deshidratados con grado 1, de este mismo -- grado fue la deshidratación de un lechón del grupo control.

Al ser evaluadas las deshidrataciones con el método de χ^2 los resultados no fueron significativos.

El cuadro No. 5 nos muestra las evaluaciones de la duración de la diarrea (en días) con el método de t' STUDENT.

Tratamiento No. 1 en este tratamiento fue donde hubo mayor número de animales afectados. Cuatro lechones duraron 1 día, uno 2 días y uno 3 días en el grupo experimental. El grupo control tuvo un lechón afectado y con duración de 2 -- días.

En el tratamiento No. 2. El grupo control no presentó el problema y en el grupo experimental solamente un le -- chón es afectado, y con duración de 2 días.

El tratamiento No. 3 nos muestra a tres lechones afec

DURACION (dias) DE LA DIARREA EVALUADAS ESTADISTICAMENTE CON EL METODO DE t'STUDENT

Tx 1

	GRUPO EXPERIMENTAL		GRUPO CONTROL
No. LECHONES	4	1 1	1
DURACION (dias)	1	2 3	2
$\bar{x} \pm s$	1.5 \pm 0.84		3.0 \pm 0

$t_{(7)} = -2.98$

$p < 0.05$

Tx 2

	GRUPO EXPERIMENTAL	GRUPO CONTROL
No. LECHONES	1	-
DURACION (dias)	2	-
$\bar{x} \pm s$	0.3 \pm 0.82	0

$t_{(7)} = 0.612$ N.S.

Tx 3

	GRUPO EXPERIMENTAL	GRUPO CONTROL
No. LECHONES	2 1	3
DURACION (dias)	1 3	4
$\bar{x} \pm s$	0.3 \pm 1.33	4.0 \pm 0

$t_{(7)} = -2.7099$

$p < 0.05$

Tx 4

	GRUPO EXPERIMENTAL	GRUPO CONTROL
No. LECHONES	3	2
DURACION (dias)	1	2
$\bar{x} \pm s$	0.5 \pm 0.55	1.3 \pm 1.15

$t_{(7)} = -1.46$ N.S.

Tx 5

	GRUPO EXPERIMENTAL	GRUPO CONTROL
No. LECHONES	1	-
DURACION (dias)	1	-
$\bar{x} \pm s$	0.17 \pm 0.41	0

$t_{(7)} = 0.693$ N.S.

Tx 6

	GRUPO EXPERIMENTAL	GRUPO CONTROL
No. LECHONES	2	1
DURACION (dias)	1	1
$\bar{x} \pm s$	0.33 \pm 0.52	0.33 \pm 0.58

$t_{(7)} = 0$ N.S.

tados en el grupo experimental, dos con duración de 1 día y uno de 3 días. Todo el grupo control fue afectado, y con -- una duración de 4 días.

Tratamiento No. 4. En este tratamiento el grupo expe rimental al igual que el anterior, tres lechones resultaron afectados pero con duración de 1 día. El grupo control tuvo dos lechones afectados, pero con una duración de 2 días.

Tratamiento No. 5. Este tratamiento es donde el núme ro de animales afectados es menor (uno), así como también la duración que fue de 1 día. El grupo control no fue afectado.

En el tratamiento No. 6. La duración de la diarrea fue de 1 día para ámbos grupos, resultando afectados dos lechones en el grupo experimental y uno en el grupo control.

El ser evaluados los tratamientos con el método de -- t'STUDENT, solamente los tratamientos No. 1 y No. 3 alcanza ron significancia estadística. En el primero fue - - - - - -2.98 (P 0.05) y en el segundo de -2.70 (P 0.05). El -- resto de los tratamientos no fueron significativos.

El cuadro # 6 nos muestra los porcentajes de cerdos-- con diarrea durante la primera semana de vida, y también el-

CUADROS DE PORCENTAJE DE CERDOS CON DIARREA DURANTE LA PRIMER SEMANA DE VIDA

Tx 1

GRADO DE DIARREA	EXPERIMENTAL		CONTROL	
	LECHONES AFECTADOS	%	LECHONES AFECTADOS	%
0	0	0	0	0
1	5	83	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	3	100
4	1	17	0	0
	6	100	3	100

Tx 4

GRADO DE DIARREA	EXPERIMENTAL		CONTROL	
	LECHONES AFECTADOS	%	LECHONES AFECTADOS	%
0	3	50	1	33
1	3	50	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	2	67
4	0	0	0	0
	6	100	3	100

Tx 2

GRADO DE DIARREA	EXPERIMENTAL		CONTROL	
	LECHONES AFECTADOS	%	LECHONES AFECTADOS	%
0	5	83	3	100
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0
4	1	17	0	0
	6	100	3	100

Tx 5

GRADO DE DIARREA	EXPERIMENTAL		CONTROL	
	LECHONES AFECTADOS	%	LECHONES AFECTADOS	%
0	5	83	3	100
1	1	17	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0
4	0	0	0	0
	6	100	3	100

Tx 3

GRADO DE DIARREA	EXPERIMENTAL		CONTROL	
	LECHONES AFECTADOS	%	LECHONES AFECTADOS	%
0	2	33	0	0
1	1	17	0	0
2	2	33	0	0
3	0	0	3	100
4	1	17	0	0
	6	100	3	100

Tx 6

GRADO DE DIARREA	EXPERIMENTAL		CONTROL	
	LECHONES AFECTADOS	%	LECHONES AFECTADOS	%
0	4	67	2	67
1	2	33	0	0
2	0	0	1	33
3	0	0	0	0
4	0	0	0	0
	6	100	3	100

grado de diarrea.

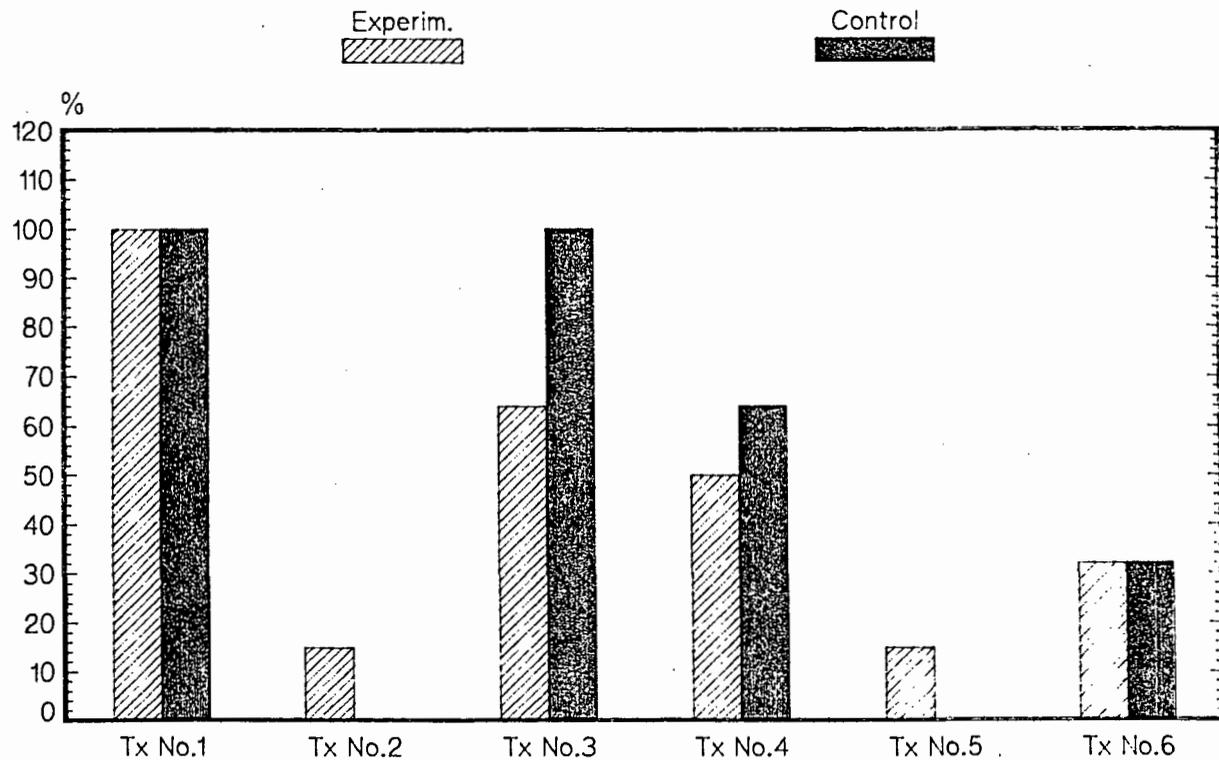
En el tratamiento No. 1 resultaron afectados todos -- los animales, tanto en el grupo experimental como en el grupo control. El grupo experimental tuvo cinco lechones con grado 1 de diarrea, representando el 83% y un lechón con grado 4, representando el 17% dando como resultado el 100% de animales afectados. Así mismo todo el grupo control (100%) - mostró diarrea de grado 3.

El tratamiento No. 2 nos muestra un solo lechón afectado con grado 1, representando el 17% de afectados, es decir, que el 83% restante no sufrió el padecimiento. El grupo control no manifestó el padecimiento.

El grupo experimental del tratamiento No. 3 nos muestra que el 67% (4 lechones) fueron afectados, uno con grado 1; dos con grado 2 y uno con grado 4. Todo el grupo control tuvo diarrea del grado 3 representando el 100% de animales afectados.

El tratamiento No. 4 Nos muestra que el 50% (3 lechones) del grupo experimental resultó afectado con 1 grado de diarrea. En el grupo control el 67% (2 lechones) fueron afectados con grado de diarrea 3.

RESUMEN GRAFICO DE PORCENTAJES DE DIARREA.



El 83% (5 lechones) en el grupo experimental del tratamiento No. 5 representa un alto porcentaje de animales sin diarrea, siendo únicamente un lechón el afectado (17%) con grado de diarrea 1. El grupo control no fue afectado.

El tratamiento No. 6 nos muestra que el 67% (4 lechones) no fue afectado mientras que el 33% sí, con grado 1. Al igual que el grupo experimental, tuvo esos resultados pero con grado de diarrea 2.

En la gráfica No. 2 se presenta un resumen de los porcentajes de diarrea.

Al término del experimento se realizó el sacrificio, la necropsia y un cultivo bacteriológico a 3 lechones de los grupos controles 1,3, y 4 que persistían con el problema diarético, resultando positivos estos exámenes a la presencia de E. coli

Como una observación particular pesamos a los lechones a los días 1 y 21 por grupo, para analizar la eficiencia en la ganancia de peso diaria, resultando positivos los grupos experimentales a excepción del tratamiento No. 2 en el que el grupo control resultó con una ganancia de peso mayor al grupo experimental (gráfica No. 3)

Los resultados fueron los siguientes:

Tx. 1 = 6.8 gr.

Tx. 2 = -7.5 gr.

Tx. 3 = 2.7 gr.

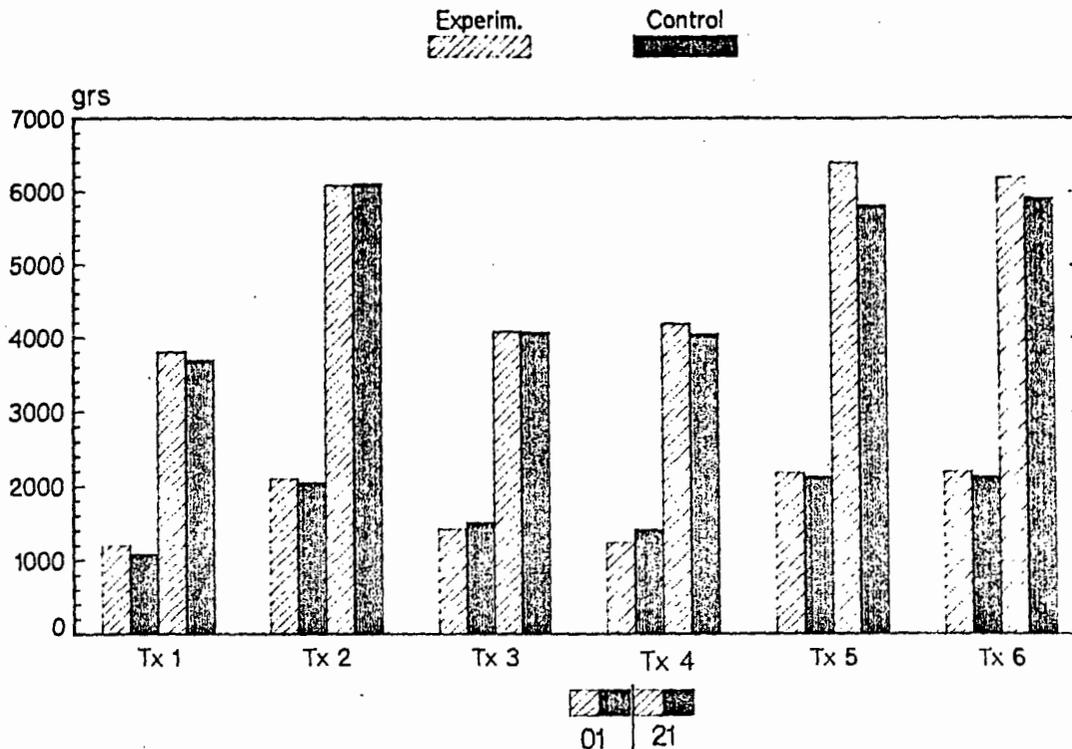
Tx. 4 = 9.15 gr.

Tx. 5 = 27.4 gr.

Tx. 6 = 12.5 gr.

También se realizó un análisis estadístico con el método t'STUDENT a las ganancias de peso no encontrándose significancia estadística.

GANANCIA DE PESO, COMPARACION ENTRE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES VS. CONTROLES A Los 21 Dias de Edad



D I S C U S I O N

La falta de protección a cerdos recién nacidos contra agentes patógenos por medio de la inmunidad pasiva natural, nos ha obligado a desarrollar un método que dé mejores resultados, para ello se decidió reforzar el sistema inmune humoral, aumentando las inmunoglobulinas séricas, por medio de la ingestión del suero hiperinmune. El fin sería aumentar su protección sistémica, disminuyendo la --susceptibilidad de los mismos.

La administración oral de inmunoglobulinas específicas contra E. coli a lechones, antes de ingerir calostro --nos permite la protección de los lechones hasta madurar su sistema inmune para formar su propia respuesta (18) como --un método alternativo para disminuir el padecimiento diarreico ocasionado por dicho agente.

Los resultados obtenidos en esta serie de experimentos muestran que la evaluación clínica de animales con diarrea difieren en forma significativa a excepción de los --grupos controles de los tratamientos No. 2 (0.100 grs. de Igs) y No. 5 (0.250 grs. de Igs) que no padecieron la infección. Sin embargo, en todos los grupos experimentales --iniciando con el tratamiento No. 5 donde el porcentaje del

cuadro clínico es el más bajo, siendo de 4.7%, siguiéndole el 9.5% del tratamiento No. 6 (0.300 grs. de Igs.), posteriormente el 14.2% de los tratamientos No. 2 y No. 4 (0.200 grs. de Igs) siendo este mismo porcentaje pero en el grupo control del tratamiento No. 6 Enseguida el 16.5% y 28.5% de los tratamientos No. 3(0.150 grs. de Igs.) y No. 1 (0.050 grs. de Igs), respectivamente.

El porcentaje de cuadro clínico para los grupos con troles fue alto en los que padecieron la infección excepto el 14.2% del tratamiento No. 6, siendo elevado en el tratamiento No. 4 con el 47.6% en el cuadro clínico, au men tan do a 71.4% del tratamiento No. 1 y el 85.7% del tratamiento No. 3 que fue el máximo porcentaje del cuadro clínico en los grupos controles, siendo estos resultados, positivos para estos experimentos.

El análisis de los resultados obtenidos con el método estadístico χ^2 muestran que los grados de deshidratación y de diarrea no son significativos. Solamente en la duración de la diarrea existe diferencia significativa al evaluarse con el método t' STUDENT, los tratamientos No. 1 y No. 3 siendo ésta de P 0.05 para ámbos.

Por otra parte, estudios realizados por Chladek y Col. (4) han demostrado que antisuero contra E. coli obte-

nido a partir de equinos, tiene efecto protector contra la mencionada bacteria en becerros recién nacidos, estos resultados apoyan los que nosotros obtuvimos en el sentido que el uso de sueros hiperinmunes administrados de animales de diferentes especies tienen efecto protector contra las infecciones más frecuentes que dichos animales sufren durante esta etapa de su desarrollo.

Parte de los resultados obtenidos no fueron significativos debido probablemente al pequeño número de animales de prueba, pero es importante señalar que si se hubiera -- utilizado un número mayor de animales de prueba, los resultados hubieran sido significativos, ya que esta tendencia es señalada por los análisis estadísticos de los mismos.

Cabe señalar que los animales tratados que sufrían el padecimiento, no llegaban a la emaciación, caso contrario a los animales no tratados. También es importante mencionar que las bajas sufridas en los grupos experimentales fueron a consecuencia de aplastamiento por parte de las -- madres.

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

- 1.- Se concluyó que las dosis mínimas necesarias - para un efecto protector es a partir de 0.050-grs. de gammaglobulinas.
- 2.- Los resultados obtenidos sugieren que utilizando lotes con un número mayor de animales, las diferencias y estadísticas entre los grupos -- tratados y no tratados pueden ser significativas en forma más clara.
- 3.- Posiblemente esta protección se refleja con -- un incremento en la ganancia de peso, debido -- a que en los animales tratados que sufrieron -- el padecimiento la emaciación fue menor.
- 4.- Este método de tratamiento profiláctico es -- efectivo y de bajo costo, ésto en relación al -- costo de antibióticos y al uso indiscriminado -- de los mismos aunado a la tensión producida -- por los manejos continuos a los animales afectados.

R E S U M E N

El presente trabajo tuvo la finalidad de disminuir la presencia de la diarrea causada por E. coli a lechones recién nacidos, con la administración de Inmunoglobulinas por vía oral. Las Inmunoglobulinas fueron obtenidas a partir de suero de cerdos adultos hiperinmunizados con una Bacterina de E. coli (13). La gamaglobulina fue separada del suero con sulfato de Amonio (GARVEY), (10) ya obtenida ésta fue liofilizada para su conservación y manejo. Se pesaron 6 diferentes cantidades de Inmunoglobulina, .050, .100, .150, .200, .250 y .300 grs, siendo administradas respectivamente a 6 lotes de 9 lechones cada uno, quedando 3 lechones como testigo en cada lote. La administración de las inmunoglobulinas a los grupos experimentales fue antes de la ingestión de calostro.

Posteriormente se llevó a cabo la evaluación clínica de los lechones tomando en cuenta los grados de diarreas y de deshidratación (4) durante la primer semana de vida. Los resultados de estos experimentos muestran que los lechones que sufren el padecimiento difieren en forma significativa a excepción de los grupos controles, de los tratamientos 2 y 5 que no padecieron la infección. Sin embargo los resultados en el cuadro clínico de los grupos expe-

rimentales van desde 4.7% al 28.5%, que como se mencionó - anteriormente fueron significativos, mientras que el porcentaje menor del cuadro clínico en los grupos controles fue - de 14.2% y el máximo de 85.7%.

La administración de la mínima cantidad de inmunoglobulinas en este trabajo, muestra que el padecimiento diarreico disminuye en los neonatos que lo presentan y es posible que esta protección se refleje con un incremento en la ganancia de peso debido a que los lechones tratados que sufren el padecimiento, tienen una emaciación menor.

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

- 1.- Bach J.S. y Col. Inmunología. Edit. Limusa. 1ra. Edición, México 1984. Páginas 283-290.
- 2.- Bradford M. Marion. A rapid and Sensitive Method of the cuantitation of Microgram Quantities of Protein utilizing the principle of Protein Dye Binding. 1976 - - Páginas 248-254.
- 3.- Cisneros Morales-González Vega. Maduración del Sistema Inmune del cerdo lactante. Avances en enfermedades del cerdo 1985. Edit. AMVEC. Pag. 51-52.
- 4.- Chladek, Gorcyca, Taylor. How well can an equine E. coli antiserum guard against bovine colibacillosis? Veterinary Medicine/January 1988. Vol. 83 NI: 100-103.
- 5.- Douglas Weiss, D.V.M. La colibacilosis entérica y su - prevención con bacterinas subunitarias. Salsbury Laboratories II Congreso ALVEC, XXII Convención AMVEC, III Encuentro UNPC Memorias Acapulco 1987 Páginas 167-171.
- 6.- Estrada, Enriquez. Estudio simplificado de las diarreas infecciosas más comunes en lechones. Veterinaria México. Revista de la Facultad de Medicina y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. Vol. 14. 1983. Páginas 93-101.

- 7.- Estrada, Rico, Martell, Rosales, Morilla. Efectos de la Administración Oral de suero sanguíneo sobre las diarreas de los lechones. Veterinaria México. Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. Vol. 16 -- 1985. Pag. 191-199.
- 8.- Friedhelm Horch. Inmunoprofilaxis de los animales domésticos. Edit. Acribia Zaragoza, España 1984. Pag. 55-95 y 120-124.
- 9.- García Flores. La porcicultura Mexicana en la Década de los 80's. Avances en enfermedades del cerdo 1985. - Edit. AMVEC. Pag. 13.
- 10.- Garvey, Cremer, Sussdorf. Amonium Sulfate Precipitation. Methods in Immunology. Cap. 4. Pag. 218-219. -- W.A. Benjamín Inc. Massachesutts U.S.A. 1977.
- 11.- Greiff D. Aplicación de vacuum techniques to the Freze Drying of Biological Material. In: Vacuum Technology - ot low temperatures S.A. Stern Editor Alche Symposium-series. No. 125 Vol. 69 Pag. 7-15 (American Instituti-ve of chemical enginneers) 1972.
- 12.- Irigoyen Alvarez. Alimentación de lechones con calostro de cerda precongelado. "Estudio Electroforético" - Trabajo de Tesis de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Guadalajara. 1986.

- 13.- Juárez Pichardo. Identificación, Conservación y cuantificación de cepas de E. coli para determinar la dosis óptima inmunizante en la elaboración de una bacteria para cerdas gestantes. Trabajo de tesis de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Guadalajara. 1987.
- 14.- Kurcy, Quintana. Efecto de la adición al calostro del suero sanguíneo Albúmina y Gammaglobulinas en lechones. Veterinaria México. Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. Vol. 7 1976. Pag. 124-131.
- 15.- Monroy H. Viniegra G. Biotecnología para el aprovechamiento de los desperdicios orgánicos. AGT Editor S.A. 1981. Pag. 19-29.
- 16.- Montaras, Pijoan. Inmunidad en el tracto gastrointestinal. Ciencias Agropecuarias. Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Guadalajara. 1980. Pag. 3-7.
- 17.- Morilla González. Inmunidad perinatal de los animales domésticos. Inmunología Veterinaria. Edit. Diana-1989. Pag. 155-173.
- 18.- Morilla, Correa, Estephano. Enfermedades Gastrointestinales. Avances en enfermedades del cerdo. Edit. -- AMVEC 1985. Pag. 321.
- 19.- Niinivaara, Antila. El valor nutritivo de la carne. -- Edit. Acribia Zaragoza España 1973. Pag. 7.

- 20.- Pernas y Bravo. Diagnóstico, Tratamiento e Inmuno-profiláxis de las diarreas colibacilares del cerdo. Ciencias Veterinarias Revista Cubana 7 (3 y 4) 1986 Pag.-131-138.
- 21.- Quiroz, Olguin, Garza. Anticuerpos adquiridos pasivamente en relación con mortalidad e incrementos de peso en lechones. Veterinaria México. Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. Vol. 6 1976. - Páginas 83-92.
- 22.- Rudolf Von der Aa. Higiene Veterinaria Moderna. Academia Zaragoza España 1971. Pag. 7-10.
- 23.- Tizard R.I. Inmunología Veterinaria Edit. Interamericana. 2da. Edición 1984. Cap. 8-11.
- 24.- Trujano Thome José Inés. Situación de la Porcicultura Nacional. Revista Síntesis Porcina Edit. Año Dos-Mil Vol. No. 11 Noviembre de 1989 Pag. 8-13.
- 25.- Uruchurtu Méndez y Col. Un estudio sobre la mortalidad de lechones en México, Veterinaria México. Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. Vol. - 7. 1976. Pag. 111-123.
- 26.- Vega López. Cinética de absorción de las protefnas del calostro por los lechones recién nacidos. Avances en enfermedades del cerdo. Edit. AMVEC 1985. Pag. 53-57.

- 27.- W.J. Zojka. Colibacilosis entérica en cerdos. Cien --
cias Agropecuarias. Revista de la Facultad de Medici-
na Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Gua -
dalajara 1980. Pag. 8-20