

SEGURIDAD DE LA VACUNA CERDOVIRAC COMO PREVENTIVA DE LA PESTE PORCINA CLASICA

Dr. Carlos A. Soria,
Pontificia Universidad Católica del Ecuador, y
Laboratorios Life, Quito.

La peste porcina clásica es una enfermedad generalmente letal causada por el **Tortor suis**, un virus filtrable, esférico, con un diámetro entre 20 y 40 mu (1).

Clínicamente se ha reconocido esta enfermedad desde 1833, la cual se caracteriza por el apareamiento de síntomas como anorexia, inactividad, tambaleo, lagrimeo, diarrea, alza de temperatura, disminución marcada en el número de leucocitos. Concomitantemente, se puede encontrar lesiones pequeñas o petequias hemorrágicas en los riñones, vejiga urinaria, epiglotis, incluso epistaxis severa acompañada de hemorragia y nódulos blancos en los pulmones (1, 2).

La multiplicación del virus es rápida, pudiendo detectárselos en la sangre desde el primer día postinfección (3). Histológicamente, es posible en-

contrar lesiones virales en las células del bazo, cerebro, riñón, vejiga y epiglotis en el clima de una infección aguda (2).

La enfermedad parece ser específica en vista de la ausencia de otro huésped natural conocido. A nivel experimental, se ha insistido inútilmente en iniciar la multiplicación viral en animales de laboratorio como ratones, ratas, cobayos (4). Koprowski et al. (5), lograron infectar conejos usando la técnica de pases alternados en cerdos, aunque no deja de ser curioso la aparente ausencia de sintomatología en conejos y en los que se nota solamente una respuesta febril, leve y corta, como único signo visible de infección.

No existen formas de control que no sean las que se pueden obtener por resistencia inmunológica. Se ha reportado la recuperación de animales des-

pués de la infección con un virus de aparente poca virulencia (2), así como la existencia de inmunidad pasiva en las primeras dos semanas de vida de los recién nacidos, provenientes de madres inmunes (6).

Se han desarrollado algunos tipos de vacunas: unas inactivadas conteniendo virus muerto, en otras se ha empleado virus vivo virulento o de poca virulencia. Las primeras producen respuestas inmunológicas muy pobres y su uso no puede justificarse. Los virus virulentos usados conjuntamente con antisueros de animales hiperinmunizados producen respuestas inmunológicas altas, aunque su uso es riesgoso, en consecuencia no ofrecen absoluta seguridad. Las vacunas a base de virus atenuados, sean estos lapinizados o provenientes de cultivos de tejidos, si bien dan respuestas más bajas, en cambio ofrecen seguridad. Se ha reportado decrecimiento en la habilidad del virus atenuado para propagarse en el huésped natural (6).

Las vacunas CERDOVIRAC de los Laboratorios LIFE, Quito, ha venido siendo utilizada como profiláctico contra la peste porcina clásica. Se trata del virus vivo de esta enfermedad, modificado por lapinización, conservado liofilizado al vacío y mantenido a bajas temperaturas. Este estudio pretende probar la seguridad y la efectividad de esta vacuna en cerditos jóvenes de varias razas, pesos y sexo, al ser confrontados con una cepa virulenta administrada en dosis letales.

MATERIALES Y METODOS

Animales de experimentación

Los cerdos utilizados en estos experimentos fueron obtenidos del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Estación Experimental Santa Catalina, Programa Porcino, Quito.

Dichos animales fueron desmamados a los 45 días de edad aproximadamente y al menos dos semanas antes de ser utilizados en estos experimentos. Todos fueron considerados individuos sanos, libres de enfermedades patógenas al momento de la adquisición y pertenecían a las razas York, Sampshire, Criollo y Criollo-Hampshire.

Los animales fueron ubicados en las porquerizas cubiertas de propiedad de los Laboratorios LIFE, cada una con una superficie útil de aproximadamente 9 m², con piso de concreto e instalaciones para recoger orina y desperdicios, directamente en pozos ciegos conteniendo cal. Los animales permanecieron en grupos de 4 a 6 individuos, con libre acceso a comida consistente de una fórmula de crecimiento (Molinos Champion) y agua.

Se observó bastante cuidado en el manejo de animales confrontados a fin de evitar la posible diseminación del virus. Para esto, se utilizó guantes, botas de caucho, overoles únicos y un pasillo obligado conteniendo cal, a la entrada y salida de las porquerizas. La desinfección de las botas de caucho, guantes, peseras, piso y paredes

de la porqueriza se efectúa con creosol al 5 por 100 o con formalina al 0.5 por ciento. Generalmente se reiniciaba un nuevo experimento, por lo menos 3 días después de realizada la desinfección total.

Virus de confrontación

El virus virulento usado en estos experimentos fue obtenido de la American Type Culture Collection, ATCC, Rockville, Md. y corresponde a la cepa Lederle ATCC N° VR-132. Este virus fue conservado en una ampollita liofilizada con vacío, la cual permaneció a -70°C por al menos 3 años. El liofilizado fue reconstituido con 0.15 N cloruro de sodio y seguidamente inoculado vía intramuscular en 2 cerditos (macho y hembra) de 7 kg de peso y 8 semanas de edad.

Los animales fueron previamente desparasitados con Panacur (Hoechst Eteco S.A., Quito) a razón de 10 mg por kg; además, previa la confrontación, se tomaron temperaturas rectales en la mañana y en la tarde durante 7 días, observando las heces y el comportamiento general de los animales, para constatar que se trataba de individuos sanos. Posterior a la confrontación, se continuó registrando la temperatura mañana y tarde.

Los animales fueron sangrados de la vena marginal de la oreja 5 días después de infectados, cuando el promedio de la temperatura había subido a 40.6°C . Al momento de la confrontación, la temperatura registrada fue de 38.9°C .

La sangre fue recogida en frascos estériles con 1 cm^3 de una solución estéril anticoagulante - conservadora, por cada 30 cm^3 de sangre. Cada cm^3 de esta solución contenía 50 mg de citrato sódico, 3.500 U. de penicilina G potásica y 15 mg de estreptomycin sulfato. La sangre en esta preparación, que hubo de servir como inóculum de confrontación, permaneció a -70°C hasta el momento de su uso.

La patogenicidad de este virus de confrontación fue observado en los siguientes experimentos. Un grupo de 2 animales sanos, macho y hembra, con peso promedio de 6.3 kg y 8 semanas de edad, recibieron cada uno 5 cm^3 de sangre de confrontación, administrado por vía intramuscular.

Se estudió la variación diaria de la temperatura desde 7 días antes de la confrontación hasta 12 días después. La temperatura fue registrada en horas similares, una vez en la mañana y otra en la tarde, utilizando un termómetro rectal CT R2SL Terumo Corp., Japón, previamente valorado para asegurarnos de su exactitud. El termómetro utilizado fue de uso exclusivo del grupo, tomando la precaución de desinfectarlo con alcohol yodado antes y después de cada medición.

Otros 3 animales, 2 machos y una hembra, con un peso promedio de 6.5 kg y 8 semanas de edad, fueron sometidos a un estudio similar, excepto que la confrontación se hizo con 0.5 cm^3 de sangre conteniendo virus virulento. En este caso, la temperatura fue registrada hasta 14 días después de la confrontación.

En ambos grupos de animales se anotó sintomatología, mortalidad y los resultados de las observaciones post-mortem.

La influencia del peso sobre una confrontación letal fue estudiada en un grupo de 12 animales sanos sin vacunar. Se formaron subgrupos de 3 individuos como sigue: 3 machos de 6 kg de peso, 2 machos y 1 hembra de 7 kg, 2 machos y una hembra de 8 kg y 2 hembras y 1 macho de 10.3 kg de peso promedio; todos recibieron 0.1 cm³ de sangre con el virus de confrontación por cada kg de peso, vía intramuscular. Se observó cuidadosamente los síntomas de la enfermedad y se anotó la fecha de mortalidad.

Protección

Dos cepas de virus vivo modificado fueron utilizados como vacunas: el virus lapinizado de la vacuna CERDO-VIRAC de los Laboratorios LIFE, Quito, y un virus cultivado en tejidos de origen porcino de la Casa ANCHOR, México.

Las vacunas se conservaron a 4°C y al momento de su uso estaban comprendidas dentro de su período de validez. Según las instrucciones de cada producto, se vacunó a razón de 2 cm³ de vacuna por animal, utilizando la vía intramuscular.

La seguridad de la vacuna lapinizada fue estudiada observando cuidadosamente a 5 animales vacunados y registrando cambios en sus temperaturas a varios intervalos de tiempo, por un período de 21 días. Un grupo de 5

animales no fue vacunado y sirvió de control. Al término del experimento se sacrificó a random uno de los animales que recibió el virus lapinizado y se tomaron muestras de intestino, riñón, pulmón, hígado, ganglio y bazo para estudios histopatológicos, comparándolos con tejidos similares de otro animal control que recibió 0.5 cm³ de sangre de confrontación 14 días antes de su sacrificio. Los animales restantes fueron utilizados en otros experimentos.

Los tejidos fueron fijados en formalina (bufferada pH 7.2, incluidos en parafina, cortados con un espesor de 4-5 um y colocados con hematoxilina y eosina.

Otras muestras fueron fijadas con glutaraldehído al 3 por 100 en cacodilato sódico pH 7.2 al 0.02 M; luego fueron post-fijadas en ácido ósmico, deshidratadas en acetona e incluidas en Epon 812 (Polysciences). De estas preparaciones se hicieron cortes semifinos en un ultramicrotomo Sorvall MT 5000 (Dupont) con espesores de 0.4 um, los cuales fueron teñidos con azul de toluidina.

Otros 12 animales sanos entre machos y hembras con 12.7 kg de peso promedio sirvieron para estudios de protección. Cuatro animales fueron inoculados con la vacuna lapinizada de LIFE, otros 4 recibieron la vacuna Anchor cultivada en tejidos; los 4 restantes no fueron tratados y sirvieron de control. Veinte y un días después de la vacunación, todos los animales del grupo, incluyendo los controles,

fueron confrontados con 0.5 cm³ de sangre conteniendo el virus virulento.

Los animales fueron observados cuidadosamente durante 49 días después de la confrontación y se anotó su sintomatología. Los casos de mortalidad, así como los resultados de las necropsias también fueron anotados.

En un grupo de 28 cerditos sanos se estudió la influencia del peso de los animales vacunados sobre la exposición al virus virulento. Diez y seis de estos animales recibieron la vacuna modificada de LIFE y formaron 4 subgrupos de 4 individuos cada uno, cada subgrupo con pesos promedios de 6.75 kg, 8.25 kg, 9.50 kg y 12.25 kg, respectivamente. Los 12 animales restantes no habían sido vacunados y formaron tres subgrupos control de 4 animales cada uno, con pesos promedios para cada subgrupo de 6.75 kg, 8.25 kg y 11 kg, respectivamente.

Todos los animales de este grupo, vacunados y controles, recibieron 0.5 cm³ de inóculum de confrontación, 21 días después de administrada la vacuna, y en este grupo, al igual que en los otros, también se registró sintomatología y mortalidad.

Antisuero fue preparado en 2 lechones que al momento de administrar la vacuna, pesaban 11 kg promedio y tenían 9 semanas de edad. Estos animales fueron inicialmente observados y termometrados por 7 días, a fin de comprobar ausencia de alza térmica y signos de enfermedad. Seguidamente se les vacunó con el virus lapinizado; luego, 21 días después, se les adminis-

tró 0.5 cm³ de sangre de confrontación.

Como no se observó signos de enfermedad en estos animales, ni tampoco alza térmica por encima de los 39°C promedio, se repitió de nuevo la inoculación, esta vez, con 5 cm³ de virus virulento, 21 días después de la primera confrontación. Los animales fueron mantenidos bajo constante observación y termometraje durante 35 días seguidos a la última inoculación. Al término de este tiempo, se sacrificaron los animales para obtener su sangre en la forma más aséptica posible.

Una vez coagulada la sangre, se separó el coágulo y se filtró el suero remanente a través de filtros estériles Seitz, placas EKS (Seitz Filter Werke, Alemania). El suero fue seguidamente liofilizado en condiciones estériles y se conservó a -70°C hasta el momento de su uso, donde fue reconstituido a su volumen original con 0.15 N cloruro de sodio. El coágulo y los materiales utilizados en la filtración fueron descartados después de ser autoclavados a 121°C por 30 min. Lo que no fue posible autoclavar, se sometió a una desinfección con formalina al 0.5 por ciento.

El efecto de la administración de suero anticólera en animales confrontados con virus virulento, se estudió en un grupo de 8 animales con pesos entre 8 y 12 kg.

Dichos animales fueron inicialmente confrontados con 0.5 cm³ de sangre conteniendo virus virulento. Luego se administró el antisuero vía intraperi-

toneal, a razón de 4 cm³ por kg de peso de la manera siguiente: dos animales recibieron suero a los 3 días y otros dos a los 10 días después de la administración de virus virulento;; otros dos animales recibieron antisuero a los 3 y a los 7 días después de la confrontación. Dos animales controles no recibieron antisuero.

Se observó cuidadosamente a estos animales por un máximo de 49 días, anotando su sintomatología y registrando los casos de mortalidad así como los resultados de las necropsias.

Necropsias

Se efectuaron necropsias en animales recién fallecidos o en aquellos que fueron sacrificados a la terminación del experimento. Se observaron pulmón, hígado, riñones, bazo, intestino y vejiga. Las carcaces fueron enterradas a por lo menos 2 m. de profundidad en un lecho de cal y en un sitio relativamente seco.

El material utilizado fue inmediatamente autoclavado a 121°C por 30 min. Cuando esta esterilización no era posible, se desinfectó con alcohol yodado, cresol al 5 por 100 (o) formalina al 0.5 por 100; otros materiales fueron destruidos al fuego.

RESULTADOS

Patogenicidad del virus de confrontación

La Fig. 1 representa los cambios en la temperatura rectal de animales con-

frontados con 5 cm³ de sangre con virus virulento.

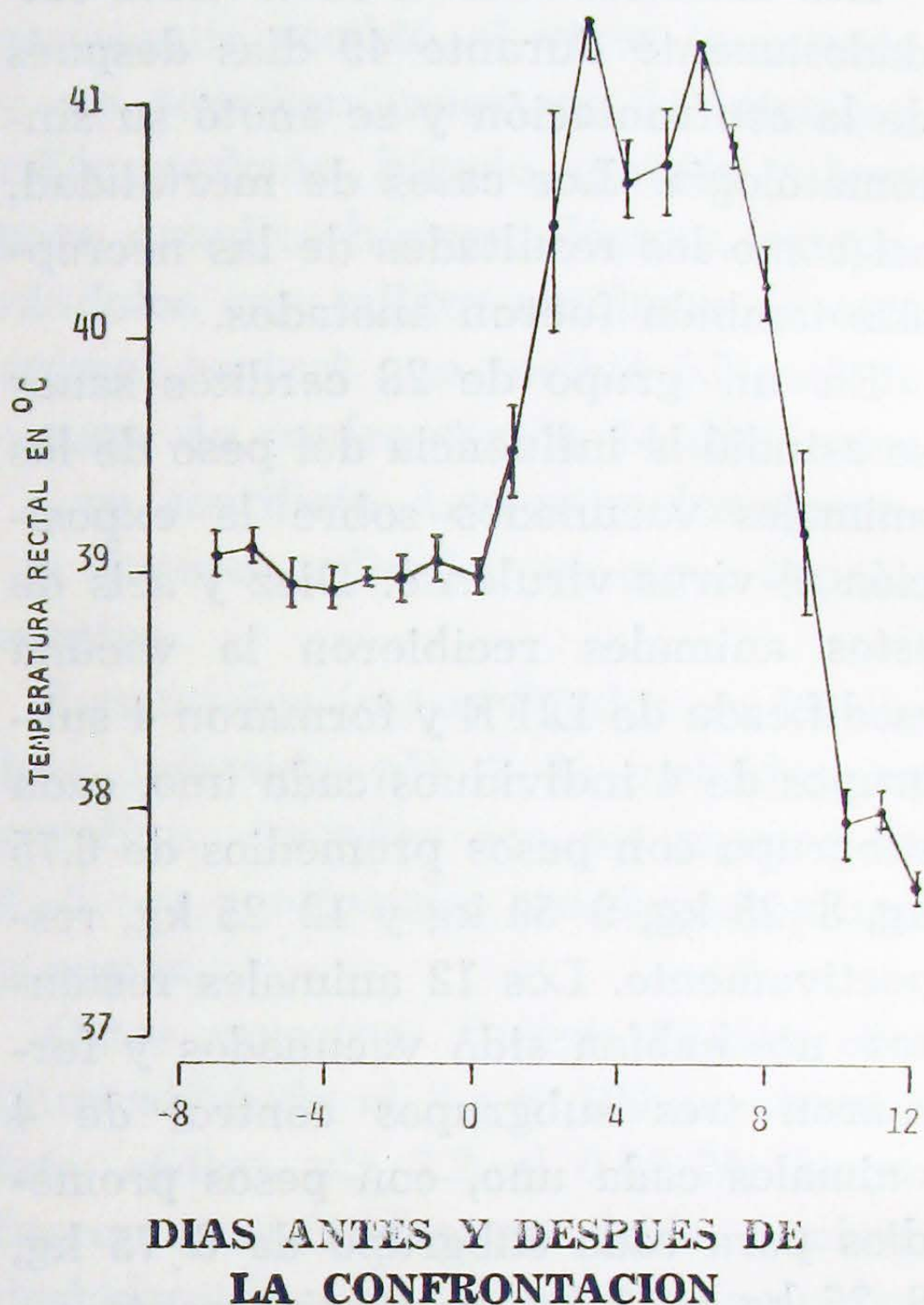


Fig. 1. Variación de la temperatura días antes y después de la confrontación intramuscular con 5 cm³ de virus de peste porcina. Cada punto y su barra vertical, corresponden a la mediana de 4 mediciones de temperatura más el error estándar.

Se observa un incremento rápido y progresivo de la temperatura a partir del primer día después de la confrontación, para alcanzar un máximo valor de más de 41°C al tercer día, fecha en la cual aparece claramente la sintomatología de dicha enfermedad. Luego, durante el cuarto día, se encontró una caída por debajo de los 41°C, para luego continuar subiendo hasta el día sexto.

En el transcurso de estos días febriles se pudo observar: presencia de diarreas, temblor, dificultad en la respiración, marcada tendencia a mantener los ojos semicerrados. También se podía notar la presencia de piel hemorrágica en las orejas y extremidades, así como una pronunciada hinchazón de la cara y nariz.

A partir del séptimo día se observó una disminución rápida de la fiebre, llegando desde el día 10 a temperaturas por debajo de aquellas consideradas normales. En estas condiciones, los animales permanecían juntos y acostados, sin coordinación, y presentaban mucha dificultad en beber agua o tomar alimentos.

Se continuaron las mediciones de temperatura hasta el día 12 después de la confrontación, tiempo en el cual y hasta el día 13, murieron estos animales.

De las observaciones post-mortem que se hicieron, se constató la presencia de tejido hemorrágico en los pulmones, bazo, vejiga, intestino y riñones. En los riñones al menos, era fácil observar tanto en el derecho como en el izquierdo, la presencia bastante homogénea de un promedio de 20 petequias por cm^2 de cápsula renal.

La Fig. 2 ilustra los cambios de temperatura rectal cuando se hizo la confrontación con una dosis 10 veces menos concentrada que la anterior.

Se observó que las temperaturas, en los primeros 3 días después de la confrontación, permanecían similares a las de aproximadamente 39°C encontradas antes de la confrontación. Sin embar-

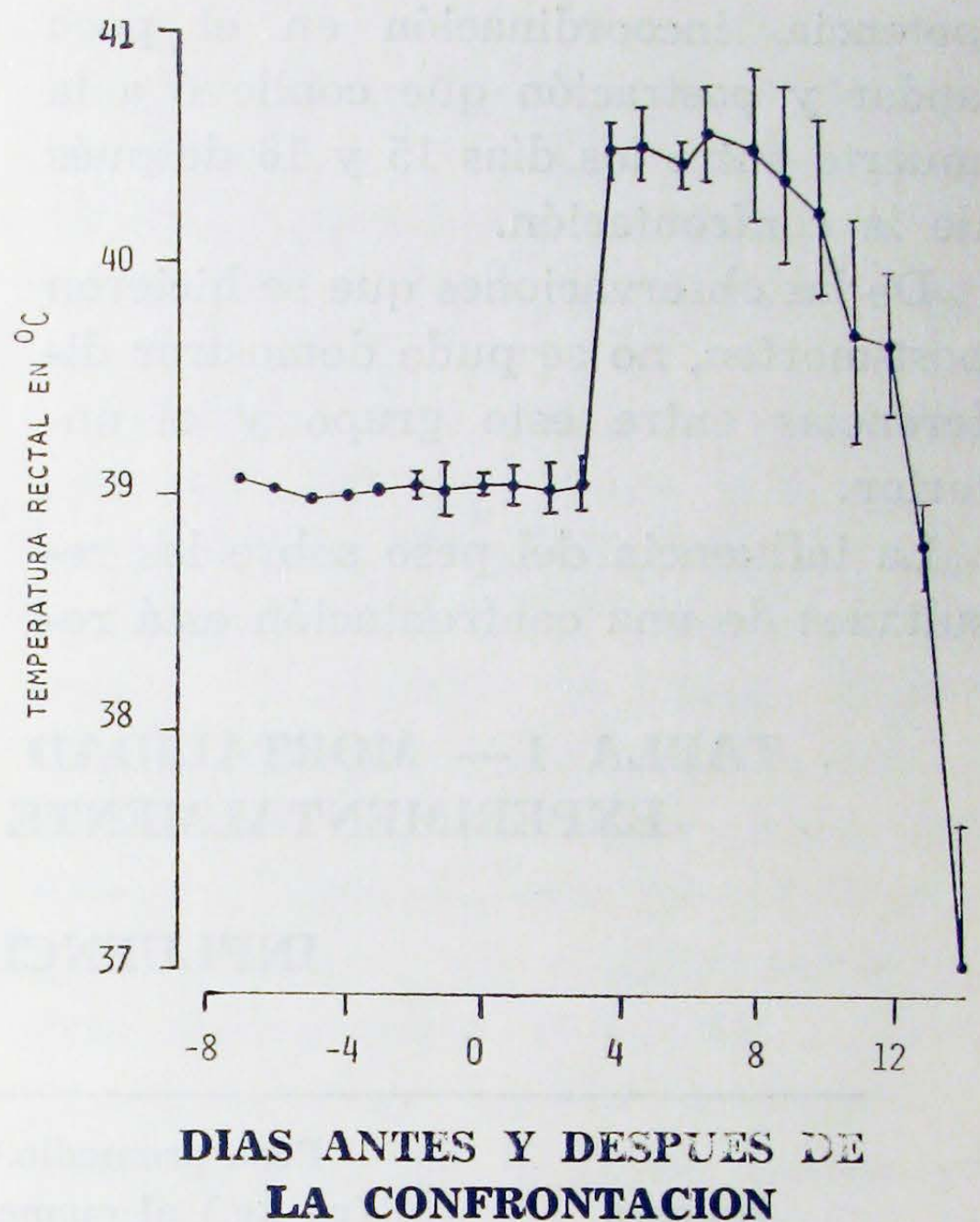


Fig. 2. Variación de la temperatura días antes y después de la confrontación intramuscular con 0.5 cm^3 de virus de peste porcina. Cada punto y su barra vertical corresponden a la mediana de 6 mediciones de temperatura más el error estandar.

go, el cuarto día, y con el apareamiento de los primeros signos de la enfermedad caracterizada por desgano, falta de apetito, nerviosismo y temblor, se registró una alza significativa por encima de los 40°C , temperatura que se mantuvo hasta los 12 días después de la confrontación.

La sintomatología de la enfermedad progresó en forma similar al grupo anterior. De ahí que en los 2 últimos días de observación, hubo una caída drástica de temperatura por debajo de los límites considerados normales, con el subsecuente decaimiento total, ina-

petencia, incoordinación en el poco andar y postración que conllevó a la muerte entre los días 15 y 16 después de la confrontación.

De las observaciones que se hicieron post-mortem, no se pudo demostrar diferencias entre este grupo y el anterior.

La influencia del peso sobre los resultados de una confrontación está re-

portada en la Tabla I. No parece haber una diferencia estadísticamente significativa en cuanto al tiempo de mortalidad y el peso del animal fluctuante entre 6 y 8 kg. Tampoco se encuentran diferencias con animales entre 8 y 10 kg. En cambio, sí es estadísticamente significativa la diferencia de al menos 1 día entre el tiempo de mortalidad (12 a 14 días) para indivi-

TABLA 1.— MORTALIDAD EN ANIMALES INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE CON COLERA PORCINA

INFLUENCIA DEL PESO

Número Animales	Peso promedio * (en kg.) al momento de confrontar		Mortalidad promedio * (días después de la confrontación)	
	3	6.0	(0.0)	12.7
3	7.0	(0.0)	11.3	(1.3)
3	8.0	(0.0)	14.3	(0.7)
3	10.3	(0.9)	15.0	(0.0)

(*) Mediana y error estandar.

duos con pesos entre 6 y 8 kg, comparada con los 15 días de sobrevivencia en animales con 10 kg de peso. En todo caso, se anota que la dosis equivalente a 0,1 cm³ de sangre de confrontación por kg de peso fue mortal para todos estos animales.

Protección

La Fig. 3 indica los cambios en la temperatura rectal de cerdos vacunados y controles registrados durante un período de 20 días después de haber

administrado la vacuna CERDOVIRAC. Se observó en ambos grupos una temperatura promedio de alrededor de 39°C, con ligeras variaciones que no parecen ser significativas. Tampoco hubo inflamación en el sitio de inoculación o en ganglios anexos; no se observó pérdida de apetito o algún otro síntoma considerable como indicio de enfermedad. No hubo mortalidad.

Tampoco se pudo demostrar en los cortes histológicos procedentes de un individuo que recibió la vacuna CER-

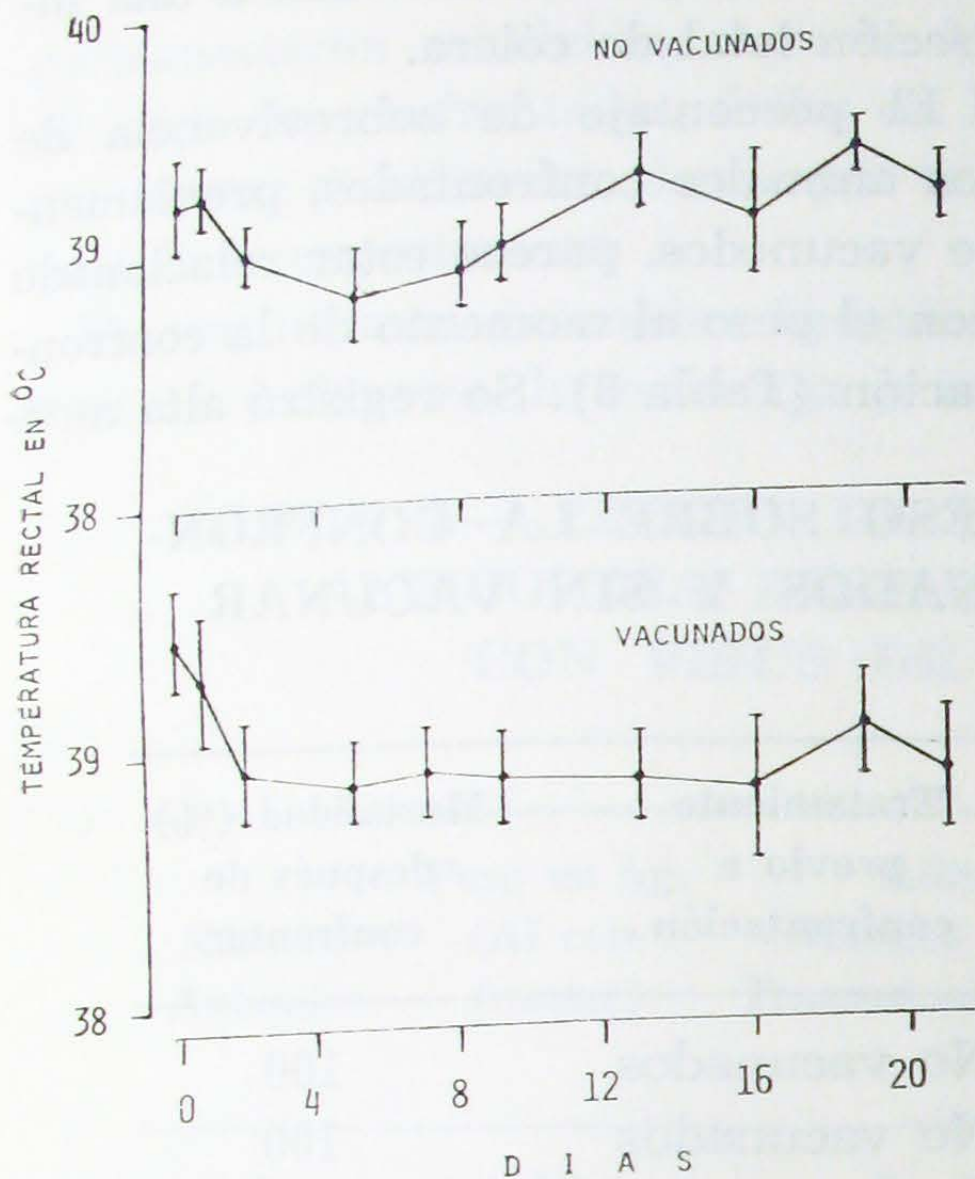


Fig. 3. Cambios en la temperatura de cerdos vacunados con virus lapinizado de peste porcina, comparación con la temperatura de animales no vacunados. Cada punto y su barra vertical corresponden a la mediana de 5 mediciones de temperatura en 5 animales más el valor estandar.

DOVIRAC, la presencia de infiltrados de células linfoplasmocitarias y micro-hemorragias con alteraciones endote-

liales de los capilares y vasos pequeños, así como la agregación de plaquetas y formación de trombos intramurales, situaciones que se hallaban en los tejidos de un animal control con infección letal.

La Tabla 2 se refiere a la protección alcanzada con el uso de la vacuna lapinizada CERDOVIRAC y con la vacuna ANCHOR preparada en cultivo de tejidos. En ambos grupos vacunados no se pudo detectar efectos indeseables de las vacunas, como por ejemplo: fiebre, inflamación en el sitio de inoculación o en ganglios cercanos, debilidad, pérdida de apetito u otros. Tampoco hubo casos de mortalidad o el apareamiento de al menos signos de enfermedad, antes o durante los 49 días después de la confrontación, fecha en la que se sacrificó a los sobrevivientes y se dio por terminado el experimento.

En contraste, los animales que sirvieron de control y que fueron mantenidos en condiciones similares a los anteriores, excepto que no fueron vacunados, murieron a los 15 días des-

TABLA 2.— VACUNACION, UN METODO DE PROTECCION CONTRA EL VIRUS DEL COLERA PORCINA

Número Animales	Vacuna Administrada	Mortalidad promedio * (Días después de la confrontación)
4	Ninguna	15 (0)
4	Cerdovirac	0
4	Anchor	0

(*) Mediana y error estandar.

pués de la confrontación con la sintomatología de la enfermedad.

En los animales vacunados y confrontados, a diferencia de aquellos que sirvieron de controles, no se pudo detectar las petequias hemorrágicas en pulmones, bazo, vejiga y especialmen-

te riñones, que caracterizan a una infección letal de cólera.

El porcentaje de sobrevivencia de los animales confrontados, previamente vacunados, parece estar relacionado con el peso al momento de la confrontación (Tabla 3). Se registró alta mor-

TABLA 3.— INFLUENCIA DEL PESO SOBRE LA CONFRONTACION DE ANIMALES VACUNADOS Y SIN VACUNAR

Número Animales	Peso promedio* en kg. (al momento de confrontar)	Tratamiento previo a confrontación	Mortalidad (%) después de confrontar
4	6.75 (0.25)	No vacunados	100
4	8.25 (0.25)	No vacunados	100
4	11.00 (0.58)	No vacunados	100
4	6.75 (0.25)	Vacunados	100
4	8.25 (0.25)	Vacunados	75
4	9.50 (0.29)	Vacunados	0
4	12.25 (0.63)	Vacunados	0

(*) Mediana y error estandar.

talidad entre el 75 y el 100 por 100, en animales vacunados con pesos entre 6 y 8 kg aproximadamente. Estas cifras se parecen al 100 por 100 de mortalidad, reportado para los animales controles que tenían pesos idénticos a los de los grupos vacunados. En contraste, no se observó mortalidad en los animales vacunados que mostraban pesos entre 9.5 kg o más al momento de la confrontación y que murieron de la infección.

La Tabla 4 muestra el efecto de la administración de antisuero, días después de iniciada la confrontación en animales de distinto peso. Se reporta

la muerte de 2 animales de 8 y 10 kg respectivamente, quienes recibieron antisuero por una sola vez a los 10 días después de la confrontación. En otros dos animales de 8 kg se reporta una extensión del tiempo de mortalidad a 18-19 días, como resultado de administrárseles suero a los 3 días después de la confrontación. Los 2 animales control que pesaron 9 y 12 kg, murieron a los 15 días después de recibir el virus virulento.

Por otro lado, se logró proteger a 2 animales que pesaban 7 y 9 kg respectivamente, los cuales recibieron antisuero a los 3 y a los 7 días después

de la confrontación. Estos animales permanecieron saludables durante los 49 días de confrontados, fecha en la que fueron sacrificados, dando por terminado el experimento.

Se encontraron petequias hemorrágicas en pulmones, bazo, vejiga y es-

pecialmente riñones, en los animales controles, al igual que en aquellos que recibieron antisuero pero que no soportaron la confrontación. En contraste, los animales confrontados, protegidos por el antisuero, no presentaron órganos hemorrágicos.

TABLA 4.— EFECTO DE LA ADMINISTRACION DE SUERO ANTICOLERA DESPUES DE LA CONFRONTACION CON VIRUS DE LA COLERA PORCINA

Número Animales	Peso en kg. (Al confrontar)	Administración del Antisuero		Mortalidad (Días después confrontación)
		Número Tratamientos	Tiempo de Administración (Días después de confrontar 1er. Trat. 2do. Trat.)	
1	12	0	0 0	15
2	9	0	0 0	15
3	8	1	10 0	15
4	10	1	10 0	15
5	8	1	3 0	18
6	8	1	3 0	19
7	9	2	3 7	0
8	7	2	3 7	0

Trat. = Tratamiento.

DISCUSION

Se ha hecho énfasis en utilizar animales sanos y controlados porque la presencia de otros órganos patógenos puede confundir la sintomatología de esta enfermedad que por sí no es muy definida (7).

El tratamiento previo con antiparasitarios se justifica porque hay evidencias de que helmintos pulmonares del cerdo sean huéspedes intermedios o al menos transportadores del

virus (8). Además, se ha encontrado que extractos de áscaris adultos en cerdos inyectados con cólera acortan el período de incubación del virus y estimulan el desarrollo de lesiones más severas (Luedke, 1960, citado por Dunne, 1).

Se escogieron animales desmamados a los 50 días de edad aproximadamente y por lo menos 2 semanas antes de ser utilizados en estos experimentos, porque a partir de esta edad ya no debería haber inmunidad fun-

cional pasiva que altere el curso de la infección o interfiera con el desarrollo de la inmunidad activa (9). Los recién nacidos reciben dosis altas de anticuerpos en el calustrum y leche de la madre inmune (2); dichos anticuerpos tienen una vida media de aproximadamente 14 días y su concentración decrece a niveles considerados bajos a los 6 u 8 semanas de vida del animal (6).

Las precauciones observadas referentes a desinfección y cuidado de áreas donde se realizaron estos experimentos se debe a que se trata de una enfermedad altamente contagiosa (19), transmitiéndose con facilidad de cerdo en cerdo y apareciendo (más que nada por transmisión mecánica) a veces en lugares donde no ha habido historia de cólera.

Para fines de este estudio, el uso del virus de confrontación adquirido de la ATCC se justifica por algunas razones: primero, por ser un virus estudiado y caracterizado; segundo, porque se elimina el riesgo de usar aislados del campo que podrían acarrear infecciones mixtas; tercero, porque para evaluar los beneficios de la vacunación en animales pequeños, necesitamos conocer el cuadro de infección en dichos animales, según las condiciones experimentales que hemos descrito.

Dicho virus permaneció infectivo después de 3 años a -70°C , lo que está de acuerdo con las observaciones de Dale y Songer (11), quienes reportaron el mantenimiento del título infectivo del virus después de 3 a 4 años a -40°C .

Sabiendo que la infección con virus de cólera ocasiona cambios citopáticos y mortalidad en los leucocitos de la sangre, que se refleja en una marcada leucopenia (12), se entiende las observaciones de Dunne et al. (13), quienes reportaron que los leucocitos de la sangre porcina no solamente sirven de transporte sino de lugar de multiplicación de este virus. Conociendo por otro lado que se puede aislar virus en la sangre de animales con una infección experimental, inclusive de 1 día y que una alta concentración viral es detectable 6 días después (3), entonces se justifica la obtención de sangre para confrontación a los 5 días de la infección cuando se registraron temperaturas elevadas. Suponemos por lo tanto una estrecha relación entre el aumento de temperatura y el aumento de partículas virales en la sangre.

Las Figs. 1 y 2 ilustran los cambios en la temperatura rectal a medida que progresa la enfermedad. Se nota una alza significativa un día después de administrar inóculum relativamente alto a razón de 0.8 cm^3 de sangre de confrontación por kg de peso (Fig. 1). Este ascenso no se vislumbra sino a los 4 días después de confrontar con un inóculum 10 veces menor (Fig. 2), lo que sugiere una relación indirecta significativa entre la cantidad de inóculum de confrontación y la duración de la fase de iniciación del crecimiento viral. Luego sigue una alza muy rápida de temperatura por los -40°C o más (que correspondería al crecimiento exponencial del virus) y que se mantiene por 8 días consecutivos en

los animales confrontados con el inóculo bajo o por solamente 6 días, aunque con temperaturas más altas en aquellos animales confrontados con inóculo alto. El aumento de temperatura va relacionado con el apareamiento de sintomatología que se observó más rápidamente en aquellos animales confrontados con dosis altas.

Seguidamente, a medida que los animales mostraban decaimiento total, inapetencia, incoordinación y postración, la temperatura empezó a caer drásticamente por debajo de lo considerado normal, justo unos días antes de la muerte de los animales.

Nótese que la mortalidad ocurrió unos días antes en el grupo que recibió una dosis de confrontación mayor, sugiriendo que bajo las condiciones de estos experimentos, el tiempo de mortalidad está en relación directa con el número de partículas infectivas que incrementan a su vez la probabilidad de iniciar rápidamente la infección.

Ahora, como en las observaciones post-mortem no se detectaron diferencias visibles entre la patología de uno u otro grupo confrontado, no parece darse una relación directa entre cantidad de inóculo e intensidad de la infección. Lo que parece más bien ocurrir es que se acorta el tiempo de iniciación del crecimiento viral con un inóculo más grande. Pero una vez iniciada la fase logarítmica, quizá los efectos sean similares en uno u otro caso, porque el virus de confrontación utilizado es muy agresivo y no parece factible el que se presenten mecanismos de defensa lo suficientemente fun-

cionales para modificar el resultado final.

Lo mismo se podría decir sobre la influencia del peso (Tabla 1), donde el incremento pequeño, aunque aparentemente significativo, en la sobrevivencia de los animales más pesados, podría deberse a un retardo en la iniciación del crecimiento viral relacionado a su vez con la distribución de partículas infectivas entre las células receptoras.

Cabe también señalar que la edad de estos animales, que al momento de la confrontación fluctuaba entre 60 y 70 días en estos experimentos, no necesariamente está relacionado con esta aparente resistencia, ya que algunos animales que registraron pesos altos correspondía a individuos más jóvenes que otros con pesos más bajos.

El uso de la vacuna CERDOVIRAC, a base de virus vivo, modificado por lapinización parece seguro. Por ejemplo, no se detectaron cambios significativos de temperatura entre los animales vacunados y aquellos controles sin vacuna (Fig. 3). Tampoco se observaron signos que indiquen agresividad del virus; al contrario, parece tratarse de virus lo suficientemente modificados como para pasar patológicamente desapercibidos; esto último, de acuerdo con los resultados de los cortes histológicos donde no se logró demostrar hiperplasia difusa de tejido linfoideo, así como adhesión y agregación plaquetaria a las células alteradas entoteliales de vasos trombocitados, vistos especialmente en riñón, hígado e intestino, además de los hemo-

rragias puntiformes petequiales a nivel de corteza y médula del riñón, cuadro que a su vez es característico en los animales confrontados con el virus virulento.

Se aconseja el uso de vacunas avirulentas que ofrezcan seguridad y que no constituyan un riesgo epidemiológico por la constante eliminación de partículas virales (6). La capacidad antigénica de esta vacuna lapinizada (y la otra en cultivo de tejidos que sirvió de control) se revela por su habilidad para proteger contra infecciones letales de cólera porcina (Tabla 2). Se han reconocido diferencias inmunológicas entre varias cepas (11).

Los animales protegidos, por otro lado, mostraban signos de haberse mantenido saludables después de la confrontación, lo que también se comprobó basados en las observaciones post-mortem de estos animales sacrificados al término de los experimentos.

El efecto profiláctico de la vacuna se hizo notorio cuando los animales vacunados tenían pesos alrededor de los 9.5 kg o más. Mientras que los animales con pesos bajos, por decir de 7 kg, morían por efectos de la confrontación. De ahí la necesidad de vacunar solamente a individuos sanos y de suficiente peso, a fin de que la vacuna sea eficiente al momento de la confrontación.

La edad no necesariamente explicaría estas observaciones porque hubieron animales más pesados y más jóvenes que otros; en consecuencia no se podría argumentar madurez inmunológica solamente, más aún, consideran-

do que el virus de confrontación utilizado en estos experimentos fue considerado muy agresivo.

Otros experimentos tendientes a explicar estas observaciones parecen oportunos, en los que se debería poner especial atención a la iniciación y mantenimiento de la respuesta inmune, así como al tiempo de confrontación y a la distribución de dicho virus entre las células susceptibles de infección en animales con pesos bajos.

La técnica de obtención de antisuero se basó en los resultados de Carrey et al. (2), quienes reportaron un incremento del título medio de un suero post-vacunación de 1.8 a 2.6, cuando se expusieron los cerdos vacunados a virus virulento.

Los resultados sobre la administración de dicho antisuero en animales con infección letal de cólera (Tabla 4), revelan la importancia de la respuesta inmunológica humoral en los inicios de la infección, lo cual está de acuerdo con los reportes de algunos autores (2, 3, 4, 14, 15, 16). Tal es el caso de los animales que recibieron antisuero a los 3 días, o a los 3 y 10 días después de la confrontación y en los que se pudo observar protección parcial o total. En contraste están los resultados de mortalidad obtenidos con el grupo que recibió antisuero 10 días después de la confrontación. Evidentemente se trabajó con un virus de confrontación agresivo, cuyos efectos probaron ser irreversibles una vez avanzada la enfermedad.

El virus de confrontación utilizado en estos experimentos fue considerado muy agresivo.

RESUMEN

La peste porcina clásica es una enfermedad viral, específica de los cerdos, la cual sólo puede ser prevenida por vacunación. Este trabajo reporta sobre la seguridad de administrar virus vivo modificado por lapinización como profiláctico contra infecciones experimentales homólogas.

De las mediciones de temperatura, antes o después de la vacunación y confrontación, en combinación con los resultados histopatológicos, se reporta la incapacidad de los virus modificados, a diferencia de la cepa virulenta de confrontación, de ocasionar infección patológica visualizada por el apareamiento de fiebre y microcoagulaciones sistémicas con daños endoteliales de los vasos sanguíneos e infiltración linfoplasmocitaria en los tejidos. A esto se suma la habilidad de estos virus para proteger totalmente contra dosis letales cuando se administran a individuos sanos con pesos alrededor de 9.5 kg o más.

La resistencia humoral parece ser importante según los resultados de la administración de suero realizada temprano a los 3 días de la infección; caso contrario, los efectos del virus de confrontación resultaron ser mortalmente irreversibles.

SUMMARY

Hog cholera is a viral disease which can only be prevented by vaccination. This study reports about the safety of administering a strain of alive hog

cholera virus modified by lapinization, as prophylactic against another virulent strain.

Temperature measurements before and after vaccination and confrontation together with histopathological studies implies the lack of capacity of this modified virus to cause pathological infection, indicated by fever and generalized microcoagulations with damage to the endothelium of blood vessels and tissue infiltration of lymphoplasmocytes.

The modified virus were also able to give total protection against lethal dosis when used in healthy animals weighing around 9.5 kg. or more.

Humoral resistance seems important in the first stage of infection according with the results of antisera administration. When the experimental disease progressed for more than 3 days, its effects were mortally irreversible.

AGRADECIMIENTO

Se reconoce la valiosa colaboración del Dr. Raúl del Castillo en el trabajo de campo; al Dr. Nicolás Vivar, mi gratitud por haber permitido que el estudio histopatológico se haga realidad.

LITERATURA CITADA

1. Dunne H. W. 1964. Hog cholera, pgs. 140-186, en Diseases of swine, 2da. ed., The Iowa State University Press, Ames.
2. Carbrey E. A., Stewart W. C., Kresse J. I., Lee L. R. 1969. Confirmation of hog cholera diagnosis by rapid serum-

- neutralization technique. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 155 (12), 2201 - 2210.
3. Segre D. 1962. Detection of hog cholera virus by a hemagglutination test. *Am. J. Vet. Res.* 23 (95) 748 - 751.
 4. Millian J. S., Englehard W. E., 1961. Application of the conglutination complement absorption test to detect hog cholera antibodies I - the technique. *Am. J. Vet. Res.* 88 (22), 396 - 400.
 5. Koprowski H., James T. R., Cox H. R. 1946. Propagation of hog cholera virus in rabbits. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 63, 178 - 183.
 6. Loan R. W., Rodabaugh D. E. 1966. Serological studies of hog cholera immunization. *Am. J. Vet. Res.* 27 (120), 1333 - 1338.
 7. Hughes R. W., Gustafson D. P. 1960. Some factors that may influence hog cholera transmission. *Am. J. Vet. Res.* 21 (82), 464 - 471.
 8. Shope R. E. 1958. The swine lungworm as a reservoir and intermediate host for hog cholera virus. II. Attempts to demonstrate the presence of hog cholera virus in lungworms derived from swine with cholera. *J. Exp. Med.* 108, 159.
 9. Coggins L. 1964. Study of hog cholera colostral antibody and its effect on active hog cholera immunization. *Am. J. Vet. Res.* 25 (106), 613 - 616.
 10. Smith H. A., Jones T. C., 1962. Cólera del cerdo, pgs. 316-321, en *Patología Veterinaria*, 2da. Ed., Unión Tipográfica Editorial Hispano Americana, México.
 11. Dale C. N., Songer J. R., 1959. In vitro propagation of hog cholera virus. III. Cultivation of an immunological variant, with retention of its identifying characteristics. *Am. J. Vet. Res.* 20 (75), 311 - 318.
 12. Gustafson D. P., Pomerat C. M. 1957. Cytopathogenic effects of hog cholera virus on embryonic swine tissues in vitro. *Am. J. Vet. Res.* 18 (68), 473 - 480.
 13. Dunne H. W., Luedke A. J., Reich L. V., Hokanson J. F. 1957. The in vitro growth of the hog cholera virus in cells of peripheral blood. *Am. J. Vet. Res.* 18 (68), 502 - 507.
 14. Coggins L., Baker J. A. 1964. Standardization of hog cholera neutralization test. *Am. J. Vet. Res.* 25 (105), 408 - 412.
 15. Phillips C. E. 1968. In vitro potency tests for anti hog cholera antibodies: a test for anti hog cholera serums and a test for herd exposure. *Am. J. Vet. Res.* 29 (5), 1097 - 1102.
 16. Stewart W. C., Carbrey E. A., Kresse J. I. 1973. Transplacental hog cholera infection in susceptible sows. *Am. J. Vet. Res.* 34 (5), 637 - 640.