

EFFECTO DE UNA BACTERINA CONTRA *Escherichia coli* QUE CONTIENE LOS ANTIGENOS PURIFICADOS K88, K99 Y 987P, SOBRE LA FRECUENCIA DE LECHONES DIARREICOS, GANANCIA DE PESO Y MORTALIDAD DURANTE LA LACTANCIA¹

JORGE IZETA²

MARCOS MAGAÑA³

HECTOR VELASCO³

MARCOS SANCHEZ⁴

ANTONIO MORILLA²

RESUMEN

Con el objeto de evaluar la efectividad de una bacterina comercial preparada con los factores de adherencia K88, K99 y 987P de *Escherichia coli* por la técnica del ADN recombinante, se hicieron tres experimentos en granjas comerciales; se utilizaron 94 cerdas y sus camadas, un total de 789 lechones observados durante 21 o 28 días de lactancia. La mitad de las cerdas se inmunizaron dos veces, entre la quinta y la tercera semana antes del parto, la otra mitad se dejó como testigo. En el primer experimento hubo reducción del porcentaje de lechones diarreicos del 37.5% ($P < 0.001$) con respecto al grupo testigo; en el experimento 2, la reducción fue del 21.5% ($P < 0.001$) y en el experimento 3, del 35.1% ($P < 0.001$). No hubo diferencias significativas entre grupos inmunizados y testigos de los tres experimentos en el promedio de días de duración de la diarrea por camada, el porcentaje de días de diarrea, el porcentaje de camadas con lechones diarreicos, la ganancia de peso y la mortalidad. Estos resultados son semejantes a los obtenidos con otras clases de bacterinas en condiciones de campo, por lo que en apariencia esta bacterina ayuda a controlar el síndrome diarreico de los cerdos lactantes.

1 Proyecto financiado en parte por CONACyT.

2 Provento Inmunología Experimental del Cerdo. CENID Microbiología, INIFAP-SARH. Km. 15.5, Carr. México-Toluca, México, D.F., C.P. 05110.

3 Universidad del Bajío, León, Gto.

4 Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Michoacana San Nicolás Hidalgo. Morelia, Mich.

Tec. Pec. Méx. Vol. 25, No. 3 (1987)

INTRODUCCION

El síndrome diarreico de los lechones es una de las principales causas de pérdidas económicas durante la lactancia, pues provoca un retraso en el crecimiento, un incremento en los costos por medicamentos y mano de obra, y en la mortalidad. Este síndrome es causado por la interacción de un gran número de agentes así como de factores externos desencadenantes (Morilla, 1986). Dentro de los agentes etiológicos causantes de diarrea se encuentra *Escherichia coli*, la cual en los Estados Unidos de Norteamérica se ha determinado como la causante de diarrea en el 45.6% de los casos (Bergeland, 1980). En México no se tiene conocimiento de la frecuencia con que se presenta, aunque se sospecha que sea semejante a la notificada en otros países.

Se ha informado que la colibacilosis se presenta en especial durante la primera semana de vida, debido a una infección por una cepa patógena de *E. coli* que posea algunos de los factores de adherencia como son los K88, K99, 987P y F41: estos permiten a la bacteria

la adherencia a las células epiteliales y la proliferación en el intestino; además, la **E. coli** debe producir enterotoxinas como son la termolábil (LT) y la termoestable (ST), que causan la diarrea por un aumento de secreción de líquidos en el lumen intestinal (Moon, 1978).

Se ha tratado de prevenir y controlar la colibacilosis de diversas formas, como son el uso de antibióticos y quimioterapéuticos, así como la administración de substancias y bacterias acidificantes que disminuyen el pH del tracto gastrointestinal del recién nacido (Mendoza y col., 1987; Rosales y col., 1983).

Debido a que la protección del lechón contra la enfermedad proviene del calostro y la leche, por lo general se inmuniza a la cerda gestante para que ella proteja a los lechones. Para la inmunización se han utilizado intestinos de lechones infectados con **E. coli** patógena que se mezclan con el alimento, o se aíslan bacterias de los cerdos enfermos de la granja y se preparan autobacterinas para ser administradas por vía oral o intramuscular a la cerda gestante antes del parto (Kohler y col., 1975). Estos procedimientos se efectúan porque la protección contra **E. coli** en general es bastante específica para cada cepa. Debido a que las diferentes cepas poseen factores de adherencia comunes, se han preparado inmunógenos que contienen la bacteria completa con los antígenos de adherencia o sólo con los antígenos purificados obtenidos por la tecnología de ADN recombinante, de esta manera las bacterinas pueden utilizarse para proteger contra cualquier cepa patógena que posee estos antígenos. Otra forma de protección inmunológica es por medio de anticuerpos monoclonales dirigidos en forma específica contra los factores de adherencia, que se administran por vía

oral a los cerdos o becerros neonatos (Sherman y col., 1982; Morris y col., 1985).

De manera ocasional las diferentes bacterinas han sido evaluadas en su capacidad para reducir la incidencia de diarrea o mortalidad, así como para incrementar la ganancia de peso de los lechones. En condiciones experimentales, cuando se vacuna a las cerdas y se desafia a los lechones con la misma cepa de **E. coli** se obtienen buenos resultados. Por ejemplo, Nagy y col., (1985) utilizaron los antígenos purificados de **E. coli** K88ab, K88ac, K99 y 987P junto con un toxoide beta de **Clostridium perfringens** tipo C para inmunizar cerdas primerizas; al nacimiento, los lechones fueron desafiados con una cepa patógena de **E. coli** que contenía los antígenos y encontraron una reducción de la mortalidad del 93 al 100% y de la frecuencia de lechones diarreicos del 44.1 al 97.8%.

Por otra parte, cuando las bacterinas se aplican en condiciones de campo, el efecto no es tan marcado cuando se compara con los resultados obtenidos en condiciones experimentales; así, Cardella y col., (1974), utilizaron una bacterina preparada con bacterias inactivadas con formalina, la aplicaron a las cerdas por vía subcutánea y encontraron una reducción de la diarrea de los lechones del 13 al 29%. Rutter y Anderson (1972) utilizaron una bacterina inactivada con formalina y observaron una reducción de la mortalidad; el mismo efecto comunicaron Berbinschi y Marta (1971), quienes inmunizaron 83,200 cerdas con una autobacterina inactivada y observaron que hubo una reducción del 12% en la mortalidad; García (1980) obtuvo una reducción del 41% de lechones muertos.

Debido a que existe poca información sobre las bacterinas en condiciones de campo, en que no se determinan

los agentes etiológicos de la diarrea de los lechones e intervienen diversas cepas de *E. coli*, se diseñó un experimento con tres réplicas para determinar el efecto que tiene la aplicación a las cerdas de un inmunógeno comercial que contiene los antígenos purificados K88, K99 y 987P, preparados por medio de la técnica del ADN recombinante, sobre la frecuencia de los lechones con diarrea, la ganancia de peso y la mortalidad en cerdos durante la lactancia.

MATERIAL Y METODOS

Los experimentos se hicieron en tres granjas comerciales de ciclo completo, de más de 1,000 vientres cada una, localizadas en los estados de Michoacán y Guanajuato.

Se utilizó una bacterina comercial contra *E. coli* que contiene 8.3 μ g/ml de antígenos purificados K88, K99 y 987P mezclados con el adyuvante sintético carbopol¹. Las cerdas se inmunizaron por vía intramuscular con 2 ml, dos veces; la primera aplicación fue entre los 79 y 86 días de gestación y la segunda entre los 93 a 100 días.

En el primer experimento se utilizaron 14 cerdas y sus camadas de las cuales siete fueron inmunizadas (46 lechones) y siete fungieron como testigo (41 lechones); en el segundo, 34 cerdas y sus camadas: 17 inmunizadas (160 lechones) y 17 testigo (161 lechones), y en el tercer experimento 46 cerdas y sus camadas: 23 inmunizadas (185 lechones) y 23 testigo (196 lechones). En cada experimento las cerdas se inmunizaron y distribuyeron al azar dentro de una misma sala de maternidad.

Los lechones se pesaron al nacimiento y a los 21 o 28 días de edad, diario se determinó el número de lechones con diarrea y la mortalidad. Con esta información se obtuvo el porcentaje de lechones con diarrea, el

promedio de días de diarrea por camada, el porcentaje de días de diarrea, el porcentaje de camadas con diarrea, la ganancia de peso y la mortalidad. Los datos obtenidos fueron analizados por medio de las pruebas de J_i^2 , T de Student y regresión lineal.

RESULTADOS

El Cuadro 1 presenta los resultados de los porcentajes de lechones con diarrea, el promedio de días de diarrea por camada, el porcentaje de días de diarrea, el porcentaje de camadas con diarrea, la ganancia de peso y el porcentaje de mortalidad. La reducción del porcentaje de lechones con diarrea en el experimento 1 (Figura 1) fue del 37.5% ($P < 0.001$), en el experimento 2 (Figura 2) fue del 21.6% ($P < 0.001$) y en el experimento 3 (Figura 3) del 35.1% ($P < 0.001$). En promedio, la reducción de lechones con diarrea fue del 31.4% (Figura 4). No hubo diferencias con significancia estadística en los otros parámetros incluso ganancia de peso y mortalidad.

DISCUSION

Los resultados obtenidos en los tres experimentos muestran que con la inmunización de las cerdas hubo una reducción promedio de 31.4% de cerdos con diarrea durante la lactancia. Estos resultados concuerdan con los notificados por Cardella y col., (1974), quienes utilizaron una bacterina inactivada y encontraron una reducción del 13 al 29% de lechones diarreicos; por otro lado, García (1980) utilizó una bacterina autóloga oral y logró reducir un 18% de los lechones diarreicos provenientes de cerdas primerizas inmunizadas, aunque no logró modificar el porcentaje de lechones con diarrea que provenían de cerdas múltiples.

¹ Lab. Salsbury, S.A. de C.V.

Cuadro 1

Efecto de una bacterina contra *E. coli*, que contiene antígenos K 88, K 99 y 987 P purificados, sobre la diarrea de los lechones, la ganancia de peso y la mortalidad durante la lactancia.

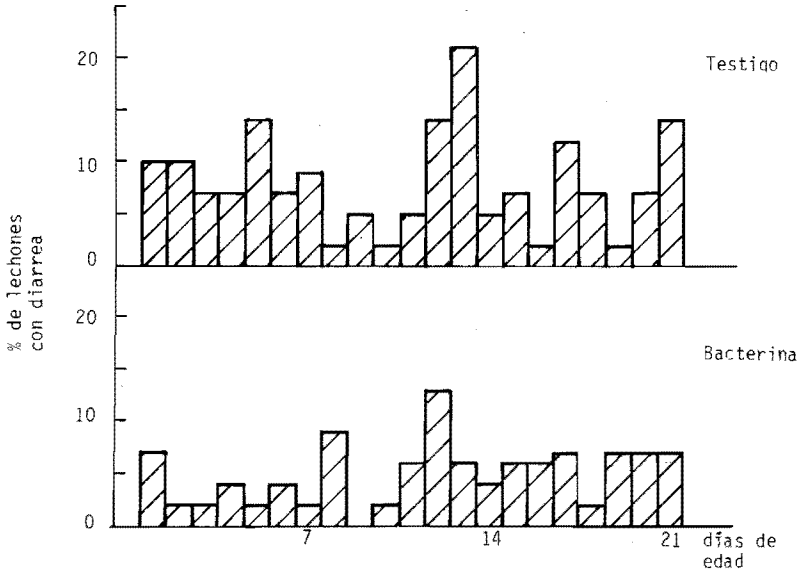
Parámetros	Experimentos					
	1		2		3	
	Inmunizados	Testigo	Inmunizados	Testigo	Inmunizados	Testigo
Lechones con diarrea (%)	5.0 (a)	8.0	8,7 (b)	11.1	9.8 (b)	15.1
Días de diarrea/camada (\bar{X})	5.4	6.5	6.9	6.8	9.1	12.5
Días de diarrea/ (%)	25.8	30.5	24.6	23.7	43,2 (b)	59.4
Camadas con diarrea (%)	100 (7/7)	100 (5/5)	100 (17/17)	100 (19/19)	100 (23/23)	100 (23/23)
Ganancia de peso (Kg/lechón) (c)	3.070	3,148	2.823	3,095	3,800	3,710
Mortalidad (%)	6.5	4.8	31.3	33.1	10,0	12.6

a) $P < 0.05$, por medio de la prueba de J_i^2 fue significativo

b) $P < 0.001$ comparado con el testigo, y en el resto no hubo diferencias

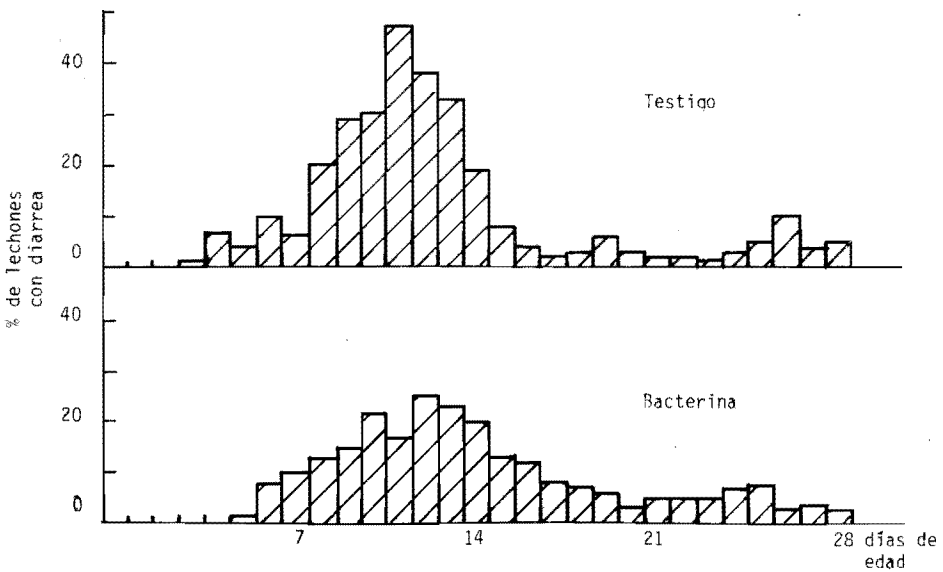
c) Por medio de la prueba de t de Student no hubo diferencias significativas entre los inmunizados y testigo.

Figura 1. Frecuencia diaria de lechones diarreicos provenientes de cerdas inmunizadas con una bacterina que contiene antígenos purificados de *E. coli* (Experimento 1)



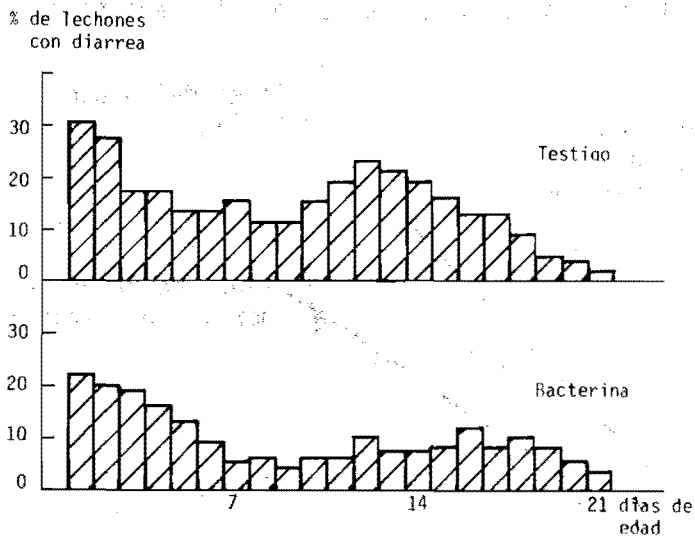
Reducción del 37.5 % ($P < 0.001$) en el grupo bacterinizado en relación al grupo testigo

Figura 2. Frecuencia diaria de lechones diarreicos provenientes de cerdas inmunizadas con una bacterina que contiene antígenos purificados de *E. coli* (Experimento 2)



Reducción del 21.6 % ($P < 0.001$) en el grupo bacterinizado en relación el grupo testigo

Figura 3. Frecuencia diaria de lechones diarreicos provenientes de cerdas inmunizadas con una bacterina que contiene antígenos purificados de *E. coli* (Experimento 3)



Reducción del 35.1 % ($P < 0.001$) en el grupo bacterinizado en relación al grupo testigo.

Con respecto a la mortalidad, en este estudio no hubo diferencia con significancia estadística entre las camadas de cerdas inmunizadas y las testigo. Otros autores informan que con el uso de los inmunógenos llega a disminuir la mortalidad entre el 12 al 41% (Berbinschi y Marta, 1971; García, 1980); aunque en otros experimentos no se ha encontrado que ocurra una reducción de la mortalidad cuando se utilizan diferentes productos inmunizantes comerciales o autólogos contra *E. coli* (Izeta y col., 1986, 1987).

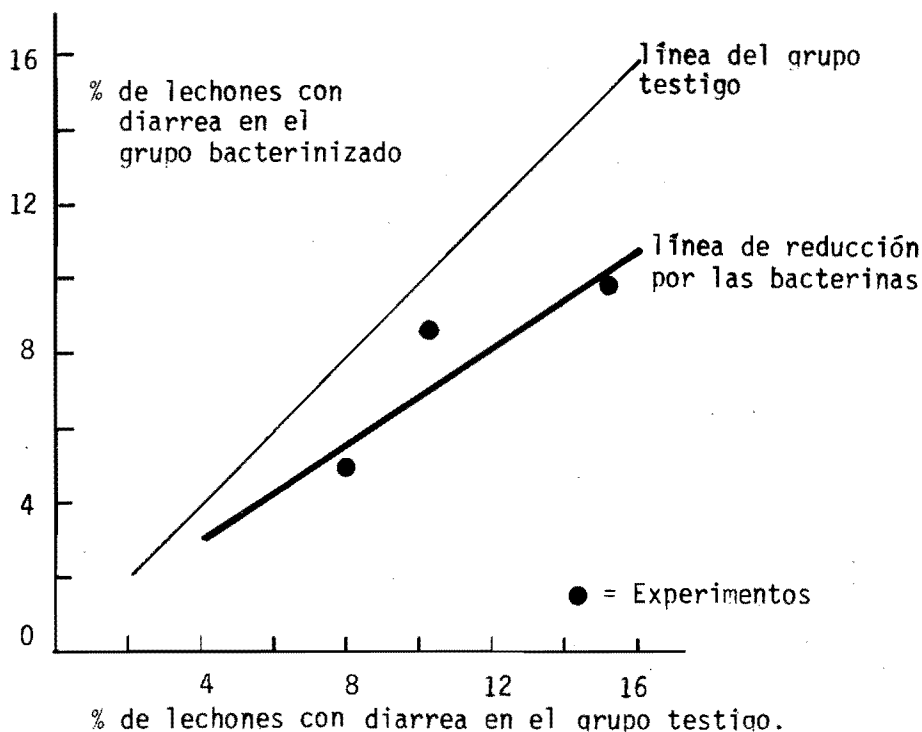
En los estudios de campo, la reducción de la diarrea en general es menor a la que se menciona cuando se usa la misma cepa de la bacteria con que se inmunizó a la cerda, para desafiar a los lechones en condiciones experimentales (Nagy y col., 1985); esto quizá es debido a que en el síndrome diarreico intervienen diversos microorganismos como *Klebsiella*, *Salmonella*, virus de la gastroenteritis

transmisible de los cerdos, los rotavirus, pararotavirus, coccidias, *Giardia* y *Balantidium*, entre otros. Es probable que el grado de reducción de diarreas que se obtienen cuando se usan las bacterinas, se deba a que la inmunidad específica contra *E. coli* controla sólo a estas bacterias pero no a los otros microorganismos y sólo a las *E. coli* que contienen los factores de adherencia. En México no se conoce la frecuencia en que se aísla *E. coli* con los factores de adherencia K88, K99 y 987P. Este dato es importante ya que permitiría determinar con más precisión el grado de protección que este inmunógeno puede conferir en el campo.

Por otro lado, la inmunización de la cerda con los inmunógenos de *E. coli* que contienen adyuvantes también puede provocar un estímulo inespecífico de la resistencia, transmitirse al lechón y de esta manera, el cerdo va a tener menos enfermedades durante la lactancia.

Figura 4

Efecto de una bacterina contra E.coli sobre la reducción del porcentaje de cerdos con diarrea durante la lactancia



SUMMARY

Different kinds of bacterins are used for the immunological control of colibacillosis of piglets. In order to evaluate the effectivity of a commercial bacterin, prepared with the adherence factors K88, K99 and 987P, from *Escherichia coli* obtained by means of the DNA recombinant technique, three experiments were done in commercial farms, using 94 sows and their litters, with a total of 789 piglets, which were followed by 21 or 28 days. Half of the sows were immunized twice, between the fifth and third week before farrowing, and the other half were left as controls. In the first experiment there was a reduction on the percentage of piglets with diarrhea of 37.5% ($P < 0.001$) in relationship to the control group; in the experiment 2, the reduction was of 21.6% ($P < 0.001$) and in the experiment 3, it was of 35.1% ($P < 0.001$). There were no statistically significant modifications between the immunized and the control groups in the three experiments with respect to average of days of duration of the diarrhea, percentage

of days of diarrhea, percentage of litters with piglets with diarrhea, body weight gain or mortality. The percentage of reduction of piglets with diarrhea obtained in these experiments indicate that this bacterin is useful in the control of the diarrheic syndrome of the suckling pigs.

LITERATURA CITADA

BERGELAND, 1980. Cited by WILSON, M.R. Enteric colibacillosis. In: Diseases of Swine. Edit. by A. D. Leman and col. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA, 5th ed. 1981. p 471.

BERBINSCHI, C. et MARTHA, M., 1971. Cercetari privind col-infectiile purceilor sugari si mijloacele de prevenire. *Rev. Zooteh. Med.*, 21:77.

CARDELLA, M.A., HUHN, R.G. and WILSON, M.R., 1974. Immunity to neonatal colibacillosis. Field studies *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 164:299.

GARCIA, F.M.P., 1980. Administración oral de antígeno vivo autógeno a cerdas gestantes para la prevención de colibacilosis entérica en lechones. Tesis de licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. México, D.F.

IZETA, M.J., MARES, F., SANCHEZ, M. y MORILLA, A., 1986. Evaluación de diferentes bacterinas en condiciones de campo. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México. p. 149.

IZETA, M.J., MAGAÑA, M. y MORILLA, A., 1987. Evaluación de tres bacterinas de *E. coli* en condiciones de campo. Memorias del XVIII Congreso Nal. de Microbiología, Acapulco, Gro.

KOHLER, E.M., CROSS, R.F. and BOHL, E.H., 1975. Protection against neonatal enteric colibacillosis in pigs suckling orally vaccinated sows. *Am. J. Vet. Res.*, 36:757.

MENDOZA, A., VEGA, M.A. y MORILLA, A., 1987. Uso de acidificantes en la prevención del síndrome diarreico en lechones. *Veterinaria Méx.* 18:65.

MOON, H.N., 1978. Pill as protective antigens in vaccines for the control of enterotoxigenic *Escherichia coli* infection. Proc. 2d. Int. Symp. Neonatal Diarrhea, p. 393.

MORILLA, A., 1986. El síndrome diarreico de los lechones. *Porclama*, 116:16.

MORRIS, J.A., THORNS, C.J., and BOARER, C., 1985. Evaluation of a monoclonal antibody to the K99 fimbrial adhesin produced by *E. coli* enterotoxigenic for calves lambs and piglets. *Res. Vet. Sci.* 39:75.

NAGY, L.K., MACKENZIE, T. and PAINTER, I. R., 1985. Protection of the nursing pigs against experimentally induced enteric colibacillosis y vaccination of dam with fimbrial antigens of *E. coli* (K88, K99 and 987P). *Vet. Rec.*, 117:408.

ROSALES, C., ESTRADA, A., MORILLA, A., CAMPOS-NIETO, E., RUIZ-NAVARRETE, A. y ACEVES, A., 1983. Efecto del yogurt y un preparado de bacterias acidificantes sobre las diarreas de los lechones. *Tec. Pec. Méx.* 45:80.

RUTTER, J.M. and ANDERSON, J.C., 1972. Experimental neonatal diarrhea caused by an enteropathogenic strain of *Escherichia coli* in piglets: A study of the disease and the effect of vaccinating the dam. *J. Med. Microbiol.* 5:197.

SHERMAN, D.M., ACRES, S.D., SADOWSKI, P.L. and MUSCOPLAT, C.C., 1982. Protection of calves against enteropathogenic colibacillosis by oral administered K-99 specific monoclonal antibody. In, Abstracts of the 63rd annual Meeting of the Conference of Research Works in Animal Diseases, Chicago II. p. 44.