

## EFFECTIVIDAD DE LA VACUNACION CONTRA LA FIEBRE PORCINA CLASICA EN CERDOS TRATADOS CON AFLATOXINA B 1.

Jorge Izeta-Mayorga <sup>a</sup>

Angel G. Martínez-Sosa <sup>a</sup>

René Rosiles-Martínez <sup>b</sup>

Camila Arriaga-Díaz <sup>a</sup>

José Torres-Cortés <sup>a</sup>

Antonio Morilla-González <sup>a</sup>

### RESUMEN

Para determinar si la intoxicación con aflatoxinas en cerdos es una de las causas de falla vacunal o reversión patogénica de la cepa vacunal en la fiebre porcina clásica, se formaron cuatro grupos de cerdos a los que se les administró 0, 0.4, 0.6 ó 1.0 ppm de aflatoxina B 1 en el alimento durante 35 días. Al día 20 del experimento los cerdos fueron vacunados con la cepa PAV-1 y al día 35 desafiados con una cepa patógena. Sólo los animales que recibieron 1.0 ppm desarrollaron signos clínicos de intoxicación y tuvieron menor ganancia de peso que fue de 3.025 kg ( $p < 0.05$ ) en comparación con 6.395 kg del grupo control, 7.504 kg del grupo que recibió 0.4 ppm y 8.214 kg del grupo de 0.6 ppm. Después de la vacunación ninguno de los cerdos mostró signos clínicos de la enfermedad y al desafío sólo los cerdos del grupo control no vacunado murieron. Se concluyó que la intoxicación por aflatoxina B1 a los niveles usados en este experimento no son la causa de falla vacunal en la fiebre porcina clásica.

Téc. Pec. Méx. Vol. 28 No. 3 (1990)

La fiebre porcina clásica (FPC) produce grandes pérdidas económicas en las explotaciones porcinas debido a lo explosivo de los brotes y a la elevada mortalidad. La enfermedad se previene inmunizando a los animales con virus atenuados, aunque ocasionalmente puede observarse que después de la vacunación, el virus vacunal revierte su patogenicidad<sup>1</sup> o los animales no

quedan protegidos<sup>2</sup>.

Se cree que una de las causas de estas fallas vacunales es el que los animales estén inmunodeprimidos durante el período de la vacunación<sup>1,2,18</sup>. Esto está apoyado por los experimentos de Florent *et al.*<sup>6</sup> quienes administraron dexametasona (0.8 mg/kg) a cerdos por 5 días y los inmunizaron con una cepa vacunal lapinizada de FPC; los animales desarrollaron signos clínicos de FPC posvacunal y el 70% de ellos murió, lo que indicó que la inmunodepresión de los animales reactivó la cepa vacunal. Pero no en todos los casos se ha demostrado reactivación del virus en<sup>173</sup>

a Inmunología, CENID-Microbiología, INIFAP, SARH. Apdo. Postal 41-652, Palo Alto, Cuajimalpa, 05110, México, D.F.

b Depto. Patología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM Ciudad Universitaria, 04510, D.F.

animales inmunodeprimidos. Por ejemplo, Kamiyo *et al.*<sup>7</sup> utilizando de xametasona y López y Jiménez<sup>8</sup> acetato de prednisolona, no observaron en los animales tratados y vacunados reactivación del virus vacunal o inhibición de la respuesta inmune protectora.

En las granjas existen diversos factores que llegan a provocar inmunodepresión en los animales, los que podrías ayudar a que ocurrieran fallas vacunales. Uno de estos factores es la presencia de aflatoxina B 1 en el alimento, la que dependiendo de la concentración puede llegar a intoxicar a los animales y a alterar su sistema inmune<sup>14</sup>. A este respecto, pollos alimentados con aflatoxina B 1 (0.5 mg/kg) por 42 días inmunizados con una bacterina contra *Pasteurella multocida* y posteriormente desafiados, tuvieron 80% de mortalidad, lo que indicó que las aflatoxinas afectaron la respuesta inmune protectora de las aves contra la bacterina<sup>12</sup>. Por otro lado, Cysewski *et al.*<sup>4</sup> administraron aflatoxina B 1 (1.3 mg/kg de peso) a cerdos durante 24 días, los inmunizaron contra *Erysipelotrix rhusiopathiae* y posteriormente los desafiaron encontrando que los animales que habían sido inmunizados desarrollaron signos clínicos de la enfermedad y algunos llegaron a morir, lo que demostró que la aflatoxina B 1 inmunodeprimió a los animales. Sin embargo, esta inmunodepresión por aflatoxina no siempre se observa ya que Pier<sup>12</sup> administró 0.5 ppm de aflatoxina B 1 en el alimento a pavos, durante 21 días y los inmunizó con vacuna de Newcastle; al desafío, los animales estuvieron protegidos demostrando que la aflatoxina no inhibió la respuesta inmune.

Con objeto de saber si una de las causas de las fallas vacunales en FPC puede ser la inmunodepresión causa-

da por la intoxicación con aflatoxina B 1, se administraron diferentes concentraciones de esta micotoxina a cerdos que posteriormente se inmunizaron con la cepa PAV 1 de FPC y se desafiaron con una cepa patógena.

Tratamientos. Se utilizaron catorce cerdos híbridos de aproximadamente seis semanas de edad susceptibles a FPC que fueron divididos en cinco grupos de tres cerdos cada uno, excepto el grupo 5 con sólo dos cerdos. El grupo 1 recibió 1.0 ppm de aflatoxina B 1 en el alimento por 35 días, el grupo 2 recibió 0.6 ppm, el 3 recibió 0.4 ppm y al grupo 4 se le dió alimento libre de aflatoxina. El día 20 después del inicio del experimento los cerdos de estos cuatro grupos fueron vacunados contra FPC y el día 35 se desafiaron. El grupo 5 recibió alimento sin aflatoxina, no se vacunó y se desafió a los 35 días.

Obtención de la aflatoxina. La aflatoxina B 1 se obtuvo siguiendo la técnica de Stoloff<sup>17</sup> y consistió en inocular *Aspergillus flavus* en maíz previamente esterilizado en autoclave a 15 lbs/15 min, e incubarlo a 25 C en 60% de humedad por aproximadamente 15 días hasta obtener una concentración adecuada. La aflatoxina se extrajo con acetónitrilo y cloroformo; la identificación se realizó por cromatografía de capa fina junto con un estándar y se visualizó por medio de luz UV de onda larga.

Vacunación y desafío. Los animales se vacunaron con dos mililitros de la vacuna cepa PAV-1 (Química Hoechst de México, S.A.) por vía intramuscular como lo recomienda el fabricante, y fueron desafiados por vía intramuscular con 2 ml de la cepa patógena Lederle (amablemente proporcionada por Química Hoechst de México, S.A.) que tenía una concentración de 10<sup>6</sup> DL50/ml.

Parámetros. Cada animal se pesó los días 0 y 35 del experimento, se anotaron los signos clínicos y la temperatura rectal y se efectuó la necropsia en los animales que murieron. La comprobación estadística se hizo por medio del análisis de varianza.

Los cerdos que recibieron 1.0 ppm de aflatoxina empezaron a mostrar inapetencia a partir del décimo día, retraso en su crecimiento, pelo hirsuto, depresión y somnolencia; además, no ganaron peso. Los demás grupos no mostraron diferencias con los cerdos del grupo que no recibió aflatoxina o testigos susceptibles (Cuadro 1). En las dos semanas siguientes a la vacunación, ninguno de los cerdos de los diferentes grupos mostró signos clínicos sugerentes de FPC, ni hubo incremento de la temperatura rectal. Después del desafío, todos los animales de los cuatro grupos vacunados estuvieron sólidamente protegidos. Los cerdos testigo no vacunados sólidamente del grupo 5 mostraron anorexia, fiebre, pelo hirsuto, diarrea, hiperemia en zonas limitadas de las orejas y vientre, incoordinación al ca-

minar, postración y muerte, a la necropsia estos animales tuvieron infartos en el bazo, petequias en la laringe y el riñón, abscesos en las tonsilas y en la válvula ileocecal (Cuadro 1, Figura 1).

En este trabajo se utilizaron los niveles de aflatoxina B 1 que con más frecuencia se encuentran en el alimento contaminado para cerdos en nuestro país, para así reproducir las condiciones de campo<sup>5,15</sup>. Se seleccionó la concentración de 1.0 ppm de aflatoxina B 1, porque era capaz de inducir signos clínicos de intoxicación, y la de 0.6 y 0.4 ppm porque se quiso determinar si la aflatoxina en baja cantidad, a pesar de no inducir manifestaciones de intoxicación, afectaba a los animales como para que no fueran capaces de montar una respuesta inmune protectora contra la vacuna de FPC. Se ha reportado que después de varias semanas de ingestión de estas dos últimas concentraciones, el efecto tóxico se manifiesta como una mayor susceptibilidad a contraer enfermedades o una disminución de la respuesta inmune de las vacunas<sup>3, 9, 10, 11, 13, 16</sup>.

CUADRO 1. GANANCIA DE PESO Y MORTALIDAD DE CERDOS TRATADOS CON AFLATOXINA B1, VACUNADOS CONTRA LA FIEBRE PORCINA CLÁSICA EL DÍA 20 Y DESAFIADOS CON VIRUS PATOGENO EL DÍA 35.

Aflatoxina por animal en 35 días (ppm)	Vacunación a los 20 días (a)	Mortalidad al desafío (b) muertos/total	Promedio en kg de la ganancia de peso por animal en 35 días.
0	Si	0/3	6.395
0.4	Si	0/3	7.504
0.6	Si	0/3	8.214
1.0	Si	0/3	3.025 (c)
0	No	2/2	NH

a) Se usó la cepa vacunal PAV-1 de Fiebre Porcina Clásica.

b) Se usaron 2 ml de la cepa patógena Lederle ( $10^6$  DL50/ml).

c)  $P < 0.05$  en relación con los otros grupos.

NH = No se hizo.

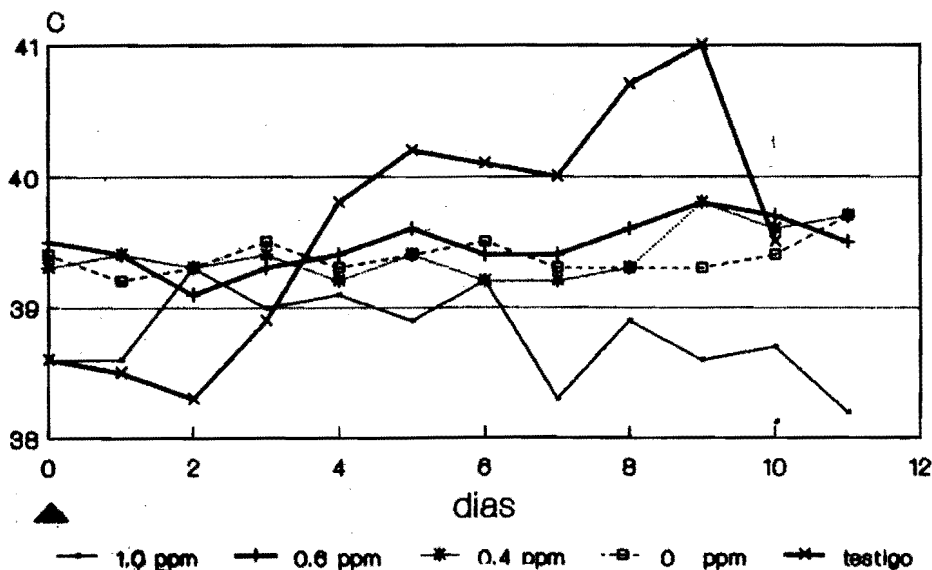


FIGURA 1 DESAFIO CON CEPA PATOGENA DE FPC

## PROMEDIO DE LA TEMPERATURA RECTAL DE CERDOS ALIMENTADOS CON AFLATOXINA B1 Y DESAFIADOS CON VIRUS DE FPC

A pesar de lo severo de la intoxicación de los animales que recibieron 1.0 ppm no hubo evidencia en este grupo, ni en los que recibieron 0.6 y 0.4 ppm de que la aflatoxina hubiera alterado el sistema inmune ya que la cepa viral no se reactivó, ni hubo falla vacunal al ser desafiados los cerdos.

Estos resultados concuerdan con lo observado por Pier<sup>12</sup> en pavos en los que el tratamiento con aflatoxina B1 no inhibió la respuesta inmune.

Por otra parte, a pesar de que en el campo se observa con alguna frecuencia la fiebre porcina clásica posvacunal o la falla vacunal, no ha sido fácil reproducirlo en animales inmunodeprimidos, pues sólo se ha logrado una vez y utilizando un potente antiinflamatorio<sup>6</sup>. Quizá la causa principal de las fallas vacunales no sea la inmunosupresión de los animales sino una baja potencia de la vacuna o un mal manejo<sup>1</sup>. En el caso de las

aflatoxinas, aunque se ha reportado que provocan cierto grado de inmunodepresión es posible que no sea suficiente como para inducir una falla vacunal de FPC, y probablemente sólo cuando interactúan con otros agentes que se encuentran en la granja ocasiona que los animales no respondan adecuadamente a las inmunizaciones<sup>14</sup>.

### SUMMARY

In order to determine if aflatoxin intoxication in pigs is one of the causes of pathogenic reversion or vaccinal failure in classical swine fever immunization, groups of 3 pigs were given 0, 0.4, 0.6 and 1.0 ppm of aflatoxin B1 in the feed for 35 days, vaccinated with PAV-1 strain on day 20 and challenged with pathogenic virus on day 35. Only the animals that received 1.0 ppm developed clinical signs of intoxication and they had an average weight gain of 3.025 kg ( $P < 0.05$ ) per pig in comparison to 6.395 kg of control group, 7.504 kg of 0.4 ppm group, and 8.214 kg of 0.6 ppm group.

After vaccination none of the pigs showed

evidence of viral pathogenic reversion and they were challenged only the nonvaccinated control pigs died of classical swine fever. It was concluded that intoxication by aflatoxin B 1 at the levels used in this experiment, is not the cause of vaccinal failures in classical swine fever.

## LITERATURA CITADA

1. AYNAUD, J.M. Principles of vaccination. In, Classical Swine Fever and related viral infections. Edited by B. Liess. Published by Martinus Nijhoff Publishing, 1988, p: 165.
2. CERVANTES, G., M. VELASCO, A.G. MARTINEZ y A. MORILLA, 1987. Encuesta sobre las vacunas y los programas de inmunización contra el cólera porcino en granjas del Estado de México. *Vet Méx.*, 18: 45.
3. CYSEWSKY, J., A.C. PIER, G. ENGSTROM, J. RICHARD, R. DOUGHERTY and J.R. THURSTON, 1968. Clinical pathological features of acute aflatoxicosis of swine. *Am. J. Vet. Res.* 39: 1577.
4. CYSEWSKY, J., R.L. WOOD, A.C. PIER and A.L. BAETZ, 1978. Effects of aflatoxin on the development of acquired immunity to swine erysipelas. *Am. J. Vet. Res.*, 39: 445.
5. FIGUEROA, C.A., 1980. Evaluación de 3 métodos para la determinación de aflatoxinas en el alimento para animales. Tesis de licenciatura de la Fac. Med. Vet. Zoot., UNAM.
6. FLORENT, A.T., J. THOMAS et J. LEUNEN, 1970. Controle des vaccins contre la Peste Porcine. Interet de l'immunodépression pour la mise en évidence de la virulence résiduelle. *Ann. Med. Vet.* 114:75.
7. KAMIYO, Y., S. OKKUMA, M. SHIMIZU and Y. SHIMIZU, 1976. Effect of dexamethasone on the multiplication of attenuated strains of hog cholera virus in pigs. *Vet. Microbiol.* 1: 475.
8. LOPEZ, M.J. y M.M. JIMENEZ, 1987. Estudio comparativo del efecto de la vacuna contra cólera porcino (Cepa PAV-1) en cerdos tratados con acetato de prednisolona. Tesis de licenciatura para obtener el grado de QFB, Fac. Est. Sup. Cuautitlán, UNAM. Edo. México.
9. MILLER, M.D., B.P. STUART and W.A. CROWELL, 1981. Experimental aflatoxicosis in swine: Morphological and clinical pathological results. *Can. J. Comp. Med.* 45: 343.
10. ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD (OPS), 1983. Micotoxinas. En. Criterios de la salud ambiental, 11: 2-83.
11. PENGALA, V.S., J.J. GIAMBIONE, V.L.; DIENER, N.D. DAVIS, F.J. HOERR, A. MITRA, R.D. SCHULTZ and G.R. WILT, 1986. Effects of aflatoxin on the growth performance and immune responses of weaning swine. *Am. J. Vet. Res.*, 47: 2062.
12. PIER, A.C., 1973. Effects of aflatoxin on immunity. *Am. J. Vet. Med. Assoc.*, 163: 1268.
13. PIER, A.C., 1980. Effects of aflatoxin and other mycotoxins on the immune response. *Nat. An. Dis. Cent. (Ames, IO) U.S. Department of Agriculture*, p: 123.
14. PIER, A.C., 1981. Mycotoxins and animal health. *Ad. Vet. Sci. Comp. Med.*, 25: 185.
15. ROSILES, R., 1978. Estudios de aflatoxicosis en ensilado de maíz. *Vet. Méx.* 9: 163.
16. SISK, B.D., W. CARLTON, and M.T. CURTIN, 1968. Experimental aflatoxins in young swine. *Am. J. Vet. Res.*, 29: 1591.
17. STOLOFF, L. 1970. Analytical methods for mycotoxins. *Clin. Tox.*, 5: 465.
18. TERPSTRA, C. and K.G. ROBIJNS, 1977. Experience with regional vaccination against swine fever in enzootic areas for limited periods using C strain virus. *Tijdschr. Diergeneesk.*, 102: 106.