

Evaluación de la terapia con linfocitos alogénicos de sangre periférica en lechones precebos sobre sus parámetros productivos durante la ceba.

D Higueta*, MV, JC Tobón*. MV, JC Peláez**, MV., JG Maldonado*, MVZ; MS.

*Grupo de Teriogenología, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia y Programa de Biogénesis, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. AA 1226, Medellín., Colombia.

** Solla S.A., Medellín, Colombia.

(Recibido: Abril 22, 98; aceptado: octubre 22, 98)

Resumen.

Se evaluó la posibilidad de potenciar la respuesta inmune de lechones de precebo usando linfocitos de sangre periférica obtenidos de cerdos de sacrificio. Dos lotes de 100 cerdos de precebo se seleccionaron en una granja comercial y se asignaron al azar al tratamiento con: Grupo 1, dos inoculaciones s.c. con intervalo de 15 días, con 1 ml (4×10^7 MNSP/ml) de una mezcla de células mononucleares de sangre periférica (MNSP) obtenidos de cerdos sin evidencia clínica de afección respiratoria o digestiva antes del sacrificio ($n=100$); y grupo 2, inoculación con 1 ml de solución salina fisiológica (SSF). Durante la ceba se registró la morbilidad y la mortalidad por causas digestivas o respiratorias y la ganancia total de peso. A los 15 días postinoculación se tomaron muestras de sangre para medir anticuerpos contra brucelosis, leptospirosis y parvovirus. Los datos productivos se evaluaron por análisis de varianza, la morbilidad y mortalidad por Prueba de Fisher y la serología por pruebas de hipótesis aplicando la *t* de student con varianzas iguales. No se observaron diferencias estadísticas significativas en la ganancia diaria y total de peso ni en la duración de la ceba ($p>0.05$). por su parte, no se observó morbilidad ni mortalidad durante el período de estudio. En la serología todas las muestras fueron negativas en ambos grupos. Los resultados sugieren que la inoculación de células alogénicas de sangre periférica no tiene efecto sobre los parámetros productivos de cerdos durante el período de ceba, ni sobre los niveles de anticuerpos contra brucelosis, leptospirosis y parvovirus, lo cual corrobora resultados obtenidos en cerdos inoculados con linfocitos obtenidos de ganglios linfáticos.

Palabras clave: aloinmunización, morbilidad, mortalidad, serología, suinos.

Introducción

En la industria porcina las mayores pérdidas económicas durante el período de ceba se deben a la morbilidad por enfermedades respiratorias y digestivas, que ocasionan retraso en el desarrollo del animal, aumento de los costos de la medicación de los lotes y pérdidas por mortalidad o por decomiso de animales durante el faenado (11). El control de las enfermedades infecciosas más importantes durante este período de crecimiento, es una norma para las granjas tecnificadas y es una de las aproxi-

maciones para obtener un buen nivel de salud cuando se pretende mejorar la competitividad de la industria (13).

Algunos grupos de investigación que trabajan en trasplantes han descubierto que las células del donante pueden migrar en el organismo receptor y establecer quimerismo lo cual parece correlacionarse con el no rechazo del injerto (8, 9). De igual modo, en inmunología de la reproducción se ha demostrado el paso de células maternas al feto durante la gestación en

murinos (6) y en humanos (7), en tanto que en porcinos se demostró la capacidad de establecer quimerismo en fetos de 80 días de gestación mediante la inoculación de células alogénicas (2). Por otra parte, diversos estudios evidencian la capacidad de conferir transferencia adoptiva de protección, de animales previamente sensibilizados contra un antígeno, al ser inoculados en animales no sensibilizados, en particular los trabajos efectuados con el modelo murino de resistencia o susceptibilidad a la leishmaniosis son el ejemplo más contundente de protección adoptiva (3).

En el presente estudio se quiso evaluar la capacidad para producir una respuesta protectora en lechones en período de iniciación mediante la inoculación de linfocitos obtenidos de cerdos de sacrificio, bajo los siguientes supuestos: 1) que los linfocitos inoculados establecieran quimerismo y confirieran transferencia adoptiva de protección a los lechones jóvenes; y 2) que la multitud de aloantígenos presentes en el inoculo aumentara el potencial inmunológico de los lechones y por tanto su capacidad de respuesta inmune ante los patógenos específicos de la granja, que atacan durante el período iniciación-acabado.

Materiales y métodos

El trabajo experimental se realizó en una granja porcícola comercial ubicada a 60 Km. de Medellín en la vereda el Zancudo del municipio de Fredonia (Antioquia).

Selección de los cerdos donadores. Antes del sacrificio se evaluaron por inspección clínica los lotes de cerdos de acabado para escoger 10 donadores sanos para cada inoculación; se escogieron animales que no presentaban manifestaciones clínicas de enfermedad respiratoria o gastrointestinal ni secuelas de rinitis atrófica.

Selección de los grupos experimentales. De los lotes de cerdos destetados se tomaron lechones que se asignaron al azar en dos grupos experimentales: 1) grupo inoculado con leucocitos alogénicos (grupo aloinmunizado); y 2) grupo inoculado con solución salina (grupo control); ambos por vía subcutánea en el pliegue de la oreja. La asignación se hizo independiente para machos y hembras. El primer lote, compuesto por 100 cerdos destetados, se seleccionó en promedio a los 41 días de edad y recibió dos

inoculaciones con un intervalo de ocho días; en la primera se inocularon 1.25×10^7 cel/ml y en la segunda se inocularon 4×10^7 a los cerdos del grupo aloinmunizado, con un intervalo promedio entre el destete y el tratamiento de 13.5 ± 0.7 días. A los cerdos del grupo control se les inoculó con 1 ml de solución salina, con un intervalo promedio entre el destete y el tratamiento de 12.2 ± 0.8 días.

En el segundo lote, compuesto por 100 cerdos destetados también se practicaron dos inoculaciones con el mismo intervalo que con el primer lote: la primera dosis fue de 2.5×10^7 cel/ml y la segunda de 4×10^7 cel/ml en el grupo aloinmunizado; con un intervalo promedio entre el destete y el tratamiento de 31.5 ± 1.7 días. Los cerdos del grupo control se inocularon con 1 ml de solución salina, con un intervalo promedio entre el destete y el tratamiento de 31.1 ± 1.7 días.

Todos los lechones fueron individuos F_2 , producto del cruce de hembras F_1 (Large White x Landrace) con machos puros de las razas Landrace, Large White o Hampshire. Se controlaron las variaciones logrando una proporción en ambos grupos de 50% machos y 50% hembras. Todos los animales recibieron el mismo esquema de vacunación establecida en la explotación: Fiebre aftosa y Peste porcina clásica al día 43 de nacimiento. Otras fuentes de variación se controlaron sometiendo a los animales a iguales condiciones, como alimentación, alojamiento y manejo.

Los cerdos donadores se sangraron por punción yugular con aguja de 19G x 1.5' en tubos de vacío heparinizados (Becton Dickson, Rutherford, NJ); las muestras se transportaron al laboratorio bajo refrigeración. Las células mononucleares de sangre periférica se obtuvieron por centrifugación en gradientes de Ficoll (1), se empacaron en dosis individuales resuspendidas en 1 ml de solución salina y se transportaron del laboratorio a la granja bajo refrigeración.

Pruebas serológicas

En ambos lotes se tomaron muestras de sangre antes y después de la inoculación con el objeto de determinar la presencia y el título de anticuerpos contra la *Brucella*, la *Leptospira* y el *Parvovirus*, en los animales a estudiar; luego de

separar los sueros se sometieron a pruebas serológicas de la siguiente forma: prueba del antígeno de brucella amortiguador o de tarjeta para determinar *Brucella* y técnica de inhibición de la hemoaglutinación para la detección de anticuerpos de parvovirus porcino, ambas efectuadas en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia (Gentil colaboración del profesor Sadoh Molina); y prueba de microaglutinación lisis para *Leptospira*, en el Laboratorio de Diagnóstico de Tecniagro S.A (Gentil colaboración de la veterinaria Adriana Cardona).

Durante el estudio se evaluó la morbilidad y mortalidad en período de ceba, por medio de observación directa de animales que presentaran síntomas clínicos de enfermedad respiratoria, digestiva o ambas; al igual que la mortalidad y su causa. La ganancia diaria experimental se calculó restando al peso final el peso a la inoculación, dividido por el número de días de la ceba durante el tiempo entre la inoculación y el sacrificio; la ganancia total en ceba se obtuvo de restar del peso al sacrificio el peso a la inoculación.

Del primer lote de 100 cerdos se excluyeron los datos de 45 de ellos para el análisis estadístico de ganancia diaria y total de peso: todos por confusión en la identificación para la toma individual del peso. Del segundo lote de 100 cerdos se excluyeron los datos de 20 animales debido a que estos últimos fueron transportados a otra granja lo cual ocasiona una alteración en la homogeneidad de las variables repercutiendo posteriormente en los resultados. Es importante anotar que tanto los cerdos del grupo aloinmunizado como los del grupo control de ambos lotes eran de diferentes edades y camadas; de igual forma, la duración del periodo de ceba no fue el mismo para todos los cerdos (Tabla 2).

Análisis estadístico. Para ambos lotes de animales los resultados se evaluaron por análisis de varianza multifactorial, de acuerdo con el modelo de medias mínimas cuadráticas propuesto por Harvey (1975) para grupos no pareados (4), en donde se incluyeron como factores: tratamiento, sexo, edad al tratamiento, peso al trata-

Tabla 1. Datos generales al momento del tratamiento de lechones precebos inculados con mononucleares de sangre periférica (MNSP) de cerdos de sacrificio (medias mínimas cuadráticas \pm error estándar)

Lote	n	Grupo	Intervalo destete tratamiento (días)	peso al tratamiento (Kg.)
1	25	Control	12.2 \pm 0.8	9.0 \pm 0.6
	28	Aloinmunizado	13.5 \pm 0.7	11.1 \pm 0.5
2	40	Control	31.5 \pm 1.7	16.5 \pm 0.5
	40	Aloinmunizado	31.1 \pm 1.7	15.8 \pm 0.5

miento y ceba experimental. Se consideró que los factores tuvieron efecto en el modelo cuando en el análisis de varianza mostraron un valor de F (*F-ratio*) mayor o igual a 1, un valor de «p» estadísticamente significativo (<0.05), o ambos. Los resultados serológicos se evaluaron mediante prueba de hipótesis aplicando la *t* de *student* con varianzas iguales; como la hipótesis nula se asu-

mió la igualdad entre los promedios obtenidos de los títulos de los sueros analizados y como hipótesis alterna la diferencia entre éstos.

El análisis estadístico se aplicó a los datos de cada uno de los individuos, porque los corrales de ceba se conformaron con animales de ambos grupos experimentales, para ambos lotes de cerdos.

Tabla 2. *Parámetros productivos en lechones de precebo inoculados con células alogénicas (medias mínimas cuadráticas \pm error estándar).*

Lote	n	Grupo	Duración de la ceba (días)	Ganancia diaria (gr.)	Ganancia total (Kg.)
1	25	Control	136.3 \pm 1.0	721 \pm 16	100.2 \pm 2.2
	28	Aloinmuniz.	138.0 \pm 1.2	717 \pm 29	99.9 \pm 4.1
2	40	Control	130.4 \pm 2.1	665 \pm 14	85.9 \pm 2.2
	40	Aloinmuniz.	134.8 \pm 2.1	645 \pm 14	85.5 \pm 2.5

Resultados

Lote 1. La duración de la ceba no presentó diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) entre el grupo aloinmunizado (138.1 \pm 1.2 días) y el grupo control (136.3 \pm 1 días). El peso al sacrificio no presentó diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) entre el grupo aloinmunizado (110.4 \pm 2.3 Kg.) y el grupo control (111.2 \pm 4.1 Kg.). Asimismo, la ganancia diaria de peso no presentó diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) entre el grupo aloinmunizado (721 \pm 16 gr) y el grupo control (717 \pm 29 gr).

Durante el tiempo de evaluación del estudio no se halló ningún signo clínico de enfermedad ni muerte durante el período de estudio en los dos grupos de animales del primer lote.

Lote 2. El peso al sacrificio no fue estadísticamente significativo ($p > 0.05$) entre el grupo aloinmunizado (102.2 \pm 2.1 Kg.) y el grupo control (97.8 \pm 2.4 Kg.). En la ganancia total de peso durante el periodo experimental no se halló diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) entre el grupo aloinmunizado (85.9 \pm 2.2 Kg.) y el grupo control (82.5 \pm 2.5 Kg.). Tampoco se encontraron diferencias en la ganancia de peso, la cual fue de 665 (\pm 14 gr) para el grupo aloinmunizado y 645 (\pm 14 gr) para el grupo control.

Al igual que en el lote 1, en ninguno de los dos grupos de animales se observaron casos de morbilidad o mortalidad.

Pruebas serológicas

Brucella. Los resultados obtenidos en la realización de esta prueba fueron en su totalidad

negativos, tanto para los grupos control como para los grupos aloinmunizados, lo cual indica que no existe una diferencia estadística significativa (Tabla 3).

Leptospira. Tanto en el grupo control como en el grupo tratamiento del primero y segundo lote, los resultados obtenidos en las pruebas de *Leptospira* fueron negativas para las siguientes cepas: *L. bratislava*, *L. pomona*, *L. canicola*, *L. hicterohaemorrhagiae*, *L. grippolyphosa* y *L. hardjo*.

Parvovirus. Los resultados obtenidos en esta prueba dieron una variación de títulos tanto para el grupo control como para el grupo tratamiento de ambos lotes. Estos títulos oscilaron entre $<1:100$ y $1:25600$. El análisis estadístico indicó que no hubo diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) entre los promedios de títulos de anticuerpos en ambos grupos.

Discusión

En la industria porcina se requiere constantemente de nuevas y mejores técnicas científicas que permitan conocer a fondo el verdadero comportamiento productivo de los cerdos y lograr un óptimo nivel de salud en las granjas, lo que puede facilitar el descubrimiento de procesos que ayuden a alcanzar el más óptimo rendimiento (13). La granja seleccionada para la ejecución del presente estudio se caracterizaba por presentar un excelente sistema de registros que permitía la obtención de datos confiables y actualizados, además su rendimiento productivo, el estado de salud de sus animales y su funcionamiento administrativo la ubicaban como una granja de excelencia; sin embargo, existía una mínima inci-

dencia de enfermedades digestivas y respiratorias, lo que motivo el inicio del estudio.

Dentro del desarrollo de la investigación el azar fue fundamental para obtener una información libre de sesgos y lograr resultados confiables, no obstante se evidencia el efecto de algunas variables que no fue posible controlar: 1) la variación en la concentración de linfocitos inoculados es un factor que no se ha podido controlar por la falta de estudios que permitan sustentar algún número o concentración óptima de linfocitos para obtener el efecto alogénico buscado; y 2) el cambio de los donadores de linfocitos porque se usaron dos lotes diferentes de cerdos para las inoculaciones de los dos lotes de lechones evaluados. Estos factores constituyen fuentes de error que pueden afectar los diferentes parámetros evaluados (1). Otras variables como el intervalo destete - inoculación, la línea genética de los lechones, el sexo, el esquema de vacunación, el alojamiento, la alimentación y el manejo, se controlaron en un alto porcentaje para evitar que tuvieran efecto en los resultados.

La hipótesis de trabajo se sustentó en los conceptos de la red idiotipo-antiidiotipo (12). Cuando se produce un anticuerpo contra un antígeno determinado (llamado anticuerpo 1), este difiere en la región hipervariable con la cual reacciona el antígeno (llamada idiotipo), de los anticuerpos que produzca el organismo contra otro antígeno. Los idiotipos a su vez pueden ser reconocidos por el sistema inmune el cual produce un anticuerpo contra el idiotipo llamado antiidiotipo o segundo anticuerpo, que reaccionará únicamente contra el idiotipo; de esta forma se explica la persistencia de anticuerpos tiempo después de una infección o una vacunación (10). De acuerdo con estos planteamientos, se esperaba un aumento en el repertorio inmunológico de los cerdos destetados al ser inoculados con estímulos alogénicos y su persistencia en el período de ceba, lo que conllevaría a una mejor resistencia a los patógenos durante este período, que se reflejaría en una menor morbilidad y mortalidad, una mayor ganancia diaria y un óptimo peso al sacrificio.

En forma simultánea se consideró conveniente evaluar el repertorio inmunológico mediante técnicas serológicas estandarizadas dentro de las cuales se realizaron inhibición de la hemoaglutinación para *Parvovirus*, Rosa de bengala para *Brucella* y microaglutinación lisis para

Leptospira, las cuales no presentaron una diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) entre los grupos de estudio (Tabla 3). Estos resultados se podrían explicar porque: 1) estas pruebas determinan una inmunidad específica, contrario al objetivo inicial del estudio que consistía en producir una respuesta inmune no específica, respuesta que no fue detectada por las pruebas realizadas; y 2) los linfocitos inoculados en el grupo aloinmunizado no lograron despertar una respuesta inmunológica evidente, debido a que no hubo afinidad antígeno anticuerpo, ni avidéz del anticuerpo o hubo insuficientes de anticuerpos detectables para la prueba o ausencia de los mismos.

La variación en la concentración de linfocitos inoculados es también un factor que puede convertirse en una fuente de error para sustentar los resultados obtenidos; en el presente estudio las concentraciones oscilaron entre 1.2×10^7 y 4×10^7 células/dosis, porque no se tienen referencias sobre la cantidad ideal de células que pudieran inducir el efecto buscado o la frecuencia y cantidad de inoculaciones.

Para futuros estudios se recomienda hacer inoculaciones con diferentes frecuencias y concentraciones de linfocitos. Desde el inicio del trabajo se obtuvieron valores muy aproximados para ambos lotes en la edad al tratamiento, intervalo destete tratamiento y peso al destete para cada grupo, lo cual significa una adecuada e imparcial selección de la muestra para dar inicio al estudio.

Los resultados de morbilidad y mortalidad del presente estudio en el período analizado para ambos lotes fueron negativos, puesto que no se informó ningún signo clínico de enfermedad, tratamiento o muerte de animales. Esta información, tomada de la observación diaria de los lotes, no implica que no se hubieran presentado manifestaciones patológicas subclínicas no detectadas por el personal de la granja. Para otros estudios, este parámetro puede ser evaluado con mas certeza mediante la realización periódica de exámenes clínicos complementados con pruebas diagnósticas como hemogramas, citoquímicos y pruebas hepáticas que permitan detectar niveles de enfermedad que no se pueden detectar por evaluación clínica; además, se podrían realizar exámenes histopatológicos *postmortem* en ambos grupos experimentales haciendo principal énfasis en los órganos de los sistemas digestivo y respiratorio.

En el trabajo realizado por Bustamante y colaboradores con linfocitos obtenidos de ganglios linfáticos, se observó una diferencia estadística significativa entre ambos grupos, puesto que se encontraron menos lesiones pulmonares en el grupo tratado con linfocitos alogénicos obtenidos de ganglios linfáticos; no obstante los resultados en los parámetros productivos no presentaron diferencia estadística significativa, lo que concuerda con los resultados del presente estudio (1). Los resultados también concuerdan con el estudio de Pérez y Maldonado (1998) quienes hicieron una réplica del presente estudio en una granja con alta incidencia de problemas respiratorios, sin obtener un efecto significativo de la aloinmunización ni en los parámetros productivos ni en la morbilidad o mortalidad durante el período de la ceba (5).

Por tanto, los resultados del presente estudio, junto con los de Bustamante y col (1) y Pérez y Maldonado (5), sugieren que los linfocitos de ganglios linfáticos y de sangre periférica obtenidos de cerdos de sacrificio clínicamente sanos, no tienen ningún efecto en los parámetros productivos durante el periodo de la ceba. No obstante, se recomienda evaluar el modelo en animales de granjas de alta genética, en donde se pueda controlar el efecto de la genética; o bien, en granjas experimentales en las cuales los cerdos puedan ser sometidos a retos con antígenos o agentes patógenos específicos. Además, hacer otras mediciones de la respuesta inmune, entre ellas el nivel de reactividad contra antígenos propios de la especie porcina, pruebas de linfoproliferación ante mitógenos y ante aloantígenos.

Agradecimientos

A la Universidad de Antioquia por la cofinanciación del estudio a través del Comité para el Desarrollo de la Investigación, CODI (Acta 216 del 26 de marzo de 1996). A los propietarios y personal de la granja la Morelia. A los laboratorios de Virología y de Reproducción del Grupo Interdisciplinario para la Investigación, Biogénesis, de la Facultad de Medicina y al doctor Sadoh Molina de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad de Antioquia, por el apoyo logístico para las pruebas serológicas. Finalmente, a la empresa Tecniagro S.A. por la colaboración con las pruebas serológicas para la *Leptospira*.

Summary

Effect of alloimmunization of growing piglets with peripheral blood lymphocytes from health-finishing pigs on morbidity and growth-fattening traits.

Finishing pigs with a health condition during the fattening period and at slaughter could be considered resistant or immunocompetent against the pathogens of the farm. In order to evaluate the potential of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from these animals to confer immunological resistance to growing piglets of the same farm, 200 weaned piglets were selected in a commercial farm and randomly assigned to receive treatment with: Group 1, two sc. immunizations within a 15 days interval with 1 ml (5×10^7 cells/ml) of pooled PBM isolated from finishing pigs that did not have clinical evidence of digestive or respiratory diseases prior to slaughtering ($n=100$); and group 2, inoculation with 1 ml saline (SSF) under the same schedule ($n=100$). Both respiratory and digestive-associated morbidity and mortality cases, average daily gain (ADG) and total weight gain (TWG) during the fattening period were recorded. Serum samples were taken 15 days after inoculation and evaluated by serology for leptospira, brucella, and parvovirus. Data were analyzed by Anova and Fisher exact test. No statistically significant differences for ADG nor for TWG was observed between groups ($p>.05$). No cases of morbidity or mortality were observed during the study. These results suggest that allogeneic peripheral blood mononuclear cells do not have an effect on economic traits in fattening pigs, in concordance with similar results found with lymph node mononuclear cells. However because of the lack of morbidity and mortality rates in the study, conclusions could not be made on the effects of PBM on morbidity and mortality rates during the fattening period.

Referencias

1. Bustamante A, Agudelo F, Restrepo CE, Maldonado JG. Efecto de la aloinmunización de cerdos de precebo con linfocitos de ganglios linfáticos, sobre la morbilidad y la productividad durante la ceba. *Rev. Inmunoalergia* 1998; 7: 8-15.
2. Binns RM. Thirty years of using the porcine immune system: Reflections on swine serendipity. En: Leman AD. 1994 Swine Conference, University of Minnesota.
3. Ghalib HW, White J, Kubin M, et al. IL-12 enhances Th1-type response in human *Leishmania donovani* infections. *J Immunol* 1995; 154:4623-4629.
4. Harvey WR. Least-square analysis of data with unequal subclass numbers. USDA. 1975. 157p.
5. Pérez G, Maldonado JG. La inoculación de linfocitos de cerdos adultos sanos en cerdos jóvenes, no disminuye la incidencia de enfermedades respiratorias durante la ceba. *Rev Col Cienc Pec* 1999; 12: 24-99.
6. Piotrowsky P, Croy BA. Maternal cells are widely distributed in murine fetuses in uteri. *Biol Reprod* 1996; 54:1103-1110.
7. Pollack MS, Kirkpatrick D, Kapoor N, Dupont B, O'Reilly RJ. The identification by HLA typing of intrauterine-derived maternal T-cells in four patients with severe combined immunodeficiency. *New Eng J Med* 1982; 307:662-666.
8. Rao AS, Fontes P, Zeevi A, et al. Augmentation of chimerism in whole organ recipients by simultaneous infusion of donor bone marrow cells. *Transplant Proceed* 1995; 27:210-
9. Rao AS, Fontes P, Zeevi A, et al. Augmentation of chimerism in whole organ allograft recipients by adjuvant bone marrow transplantation. *Transplant Proceed* 1995; 27:3387-
10. Rojas W. *Inmunología*. Ed. Educativa. 9 edición. 1993; 383p.
11. Uribe JE, Cardona A. Efecto de las lesiones pulmonares sobre el rendimiento productivo del cerdo. *Memorias VI Congreso latinoamericano de ALVEC*. Santafé de Bogotá. 1995.
12. Varela FJ, Coutinho A. Second generation immune networks. *Immunol Today* 1991; 12:159-166.
13. Velásquez JI. Competitividad de la industria porcina colombiana. *Rev Col Ciencias Pec* 1997; 10 (Suppl):145-150.