



Universidad Nacional  
**SAN LUIS GONZAGA**



### **Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional**

Esta licencia es la más restrictiva de las seis licencias principales Creative Commons, permitiendo a otras solo descargar sus obras y compartirlas con otras siempre y cuando den crédito, pero no pueden cambiarlas de forma alguna ni usarlas de forma comercial.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0>

**Universidad Nacional «San Luis Gonzaga»  
de Ica**

**Programa Académico de Medicina Veterinaria**

**«Apreciación del poder Inmunogenico de  
Bacterinas contra el Colera Aviar Elaboradas  
a Base de Fenol y Estreptomicina»**

**Tesis para optar el Título de**

**MEDICO VETERINARIO**

**Juan Hugo Mendoza Reyes**

**Promoción 1971 «César Vallejo»**

**ICA - PERU**

**1972**

Universidad San Luis Gonzaga de Ica  
Facultad de Medicina Veterinaria  
BIBLIOTECA

A LA MEMORIA DE MI  
RECORDADO PADRE.

DEDICADO CON TODO CARIÑO A MI  
MADRE CUYA ABNEGACION Y SACRI  
FICIOS HICIERON POSIBLE LA CUL  
MINACION DE MIS ASPIRACIONES.

AL DR. ENRIQUE SILVERA M. Y  
SEÑORA, CON RECONOCIMIENTO,  
GRATITUD Y SINCERO AFECTO.

A MIS HERMANAS, QUIENES ME  
ALENTARON EN TODO MOMENTO.

A LAS SRTAS. MARIA LUISA Y  
CONSUELO BERNAOLA P. MI GRA  
TITUD Y ESTIMA PERSONAL.

AL DR. MANOLO FERNANDEZ DIAZ,  
COMO PROFESOR Y AMIGO.

A MIS COMPAÑEROS DE PROMOCION  
POR EL EXITO EN SU VIDA PROFE  
SIONAL.

## CONTENIDO

	Pag.
I.- INTRODUCCION	6
II.- REVISION DE LITERATURA	8
III.- MATERIALES Y METODOS	14
IV.- RESULTADOS	24
V.- DISCUSION	25
VI.- CONCLUSIONES	27
VII.- REFERENCIA BIBLIOGRAFICA	29

## I.- INTRODUCCION

La cría de aves en elevadas poblaciones y sin las debidas normas sanitarias, induce a un incremento de las epizootias. Si las aves no están previamente inmunizadas contra las enfermedades más frecuentes, las pérdidas económicas serán cuantiosas.

En esta última década, con la tecnificación de los sistemas de crianza, se ha conseguido controlar una serie de enfermedades que eran un verdadero problema para el granjero como el Newcastle, Viruela, etc. En nuestro país, por el es- caso tecnicismo, todavía persisten noxas como el Cólera aviar que tiene una elevada incidencia, especialmente en esta Pro- vincia, donde anualmente se registran más de 20 brotes (9), siendo mayormente afectadas las granjas dedicadas a la postura.

Cuando se presenta la enfermedad del Cólera aviar, las aves requieren una continua administración de antibióticos debido a que el microorganismo causal se hace fácilmente resis- tente a éstos, y el problema persiste en la parvada durante va- rios meses. Ante esta situación son comunmente usadas las bac- terinas inactivadas por fenol y que en la mayoría de los casos no ofrecen una solución efectiva (2) (22).

Al observarse estos problemas, hemos creído conve- niente elaborar varias formas de bacterinas activando primera- mente el germen ya sea en ratas o embriones de pollo, para lue- go ser inactivadas por fenol o la asociación estreptomicina-

penicilina.

En otros países no es usual la elaboración de bacterinas a base de antibióticos, quizá debido a que el problema se ha logrado controlar por medio de los adelantados sistemas de crianza y por la existencia de estrictas normas sanitarias.

Con el presente trabajo intentamos evaluar el efecto protector de esta forma de vacuna y su posible elaboración comercial.

-----  
Trabajo realizado en el Laboratorio de Patología Aviar del Departamento de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional "San Luis Gonzaga" de Ica, bajo la dirección del Dr. Manolo Fernández Díaz y la colaboración del Dr. Luis Saona Black.

## II.- REVISION DE LITERATURA

En 1880, Louis Pasteur (20) (21), describió el microorganismo causante del Cólera aviario. La identidad aparente del gérmen y la similitud de enfermedades que se producen en las diferentes especies animales, permitieron a Hueppe en 1886, agrupar a los microorganismos bajo una sola denominación: Bact. septicemia hemorrhagiae (14).

Al año siguiente, Trevisan, propuso la clasificación de los distintos agentes patógenos en especies separadas y la agrupación de todos ellos en un solo género llamado Pasteurella, en honor a Pasteur (25).

Lignieres en 1901, aplicó el nombre de Pasteurellosis al grupo de enfermedades producidas por estos microorganismos (16).

Durante muchos años se ha reconocido que las características culturales de los microorganismos del género Pasteurella aislados de diferentes especies animales eran esencialmente idénticas.

Teniendo en cuenta que estos microorganismos no pueden diferenciarse por ningún medio hasta ahora conocido, incluso las pruebas serológicas Rosebusch y Merchant han propuesto recientemente, como lo hizo Hueppe hace muchos años, que los microorganismos de la septicemia hemorrágica sean considerados como una sola especie: Pasteurella multocida.

Las pasteurella son bastoncillos ovoides muy peque-

ños, gram negativos, de 0.3 micras de ancho por 0.4-0.5 micras de largo; cuando se observa un frotis bien coloreado, los extremos de los bastoncillos se tiñen con mayor intensidad que la parte central dándoles una apariencia bipolar característica (4).

Existen varios tipos serológicos debidos a la presencia de tipos específicos de antígenos asociados a las cápsulas de las formas lisas y fluorescentes y Roberts y Carter han establecido 4 tipos serológicos: I, II, III y IV y A, B, C y D, respectivamente (3). La individualidad inmunológica puede atribuirse a un polisacárido específico y para ello recurren a pruebas de precipitación; hinchazón capsular y hemaglutinación. Carter recomienda la prueba de la hemaglutinación y señala que el tipo I (A) predomina en las aves. Estudios posteriores demostraron que solo ciertos serotipos dentro del tipo A eran patógenos para los pollos y eficaces como bacterinas. Todas las pasteurellas poseen antígenos somáticos "0" que son tóxicos para los animales y que químicamente son complejos de polisacárido-lipoproteína; mediante fraccionamiento químico, estos complejos han podido ser subdivididos en componentes de diversa actividad inmunológica.

Es de interés señalar que la primera vacuna bacteriana fue la que se utilizó para combatir el Cólera aviar. Fue elaborada por Pasteur en 1880, y el éxito alcanzado sirvió de base para estudios ulteriores que formaron los fundamentos de

nuestros conocimientos sobre inmunización artificial (6).

En 1924 Gouchenour aisló *Pasteurella* de un búfalo americano que resultó muy virulenta para la mayoría de los animales domésticos. Por inyección intrapleural en terneros logró producir una agresina, que alcanzó gran popularidad en su tiempo. No es de gran utilidad, ya que en vez de inmunizar temporalmente aumenta la susceptibilidad.

Las bacterinas se emplean no sólo para evitar las pasteurelosis de las aves sino también para curar el padecimiento. Buckley y Gouchenour, llegaron a la conclusión de que los animales domésticos podían ser protegidos mediante vacunas bacterianas y agresinas contra la inoculación de organismos virulentos. (6). Sin embargo, hasta la fecha sólo se logra inmunización por contacto con formas lisas de serotipos y son eficaces sólo contra la infección producida por ese serotipo.

Rodríguez y Antonio (22) han revisado la literatura sobre la inmunización artificial contra el Cólera de las gallinas y efectuado pruebas de comprobación en las que reprodujeron los procedimientos anteriores y las comunmente empleadas en la práctica. Utilizaron bacterinas monovalentes y mixtas (con microbios muertos por formol, fenol y calor), bacterinas yodadas, lípidos glucósidos, agresinas naturales, bacterinas de productos solubles de *Pasteurella*, bacterina monovalente precipitada con sulfato sódico y antisuero contra el Colera aviar. Ninguno de dichos agentes logró inmunidad satisfacto

ria contra la infección en cuestión.

Dougherty en 1953 demostró que una vacuna preparada en huevos incubados de pato gozaba de un poder inmunizante considerablemente superior al de las vacunas corrientes de cultivo. Con este fin se inocularon huevos de pato de 8 a 10 días de incubación con 0.1 cc. de líquido alantóico procedente de un tercer pase de huevo, muriendo la mayoría de los embriones a las 8 horas. Para elaborar la vacuna se trituran y mezclan en una batidora los sacos vitelinos, embriones y el líquido alantóico agregando formalina al 0.5%. Después de permanecer varios días en el refrigerador se sometió a la vacuna a una prueba de esterilidad (7).

Otto Bier, señala que la vacunación de las aves parece constituir un recurso profiláctico útil, siempre y cuando se usen cepas de valor antigénico comprobado (2).

Según Ernest Jawetz y col. entre las vacunas preparadas a partir de bacterias vivas atenuadas, suspensiones de bacterias virulentas muertas por calor o inactivadas por formol y fracciones químicas de los bacilos, los dos primeros han dado algo de protección que, sin embargo, es incompleta y de duración relativamente corta. Por lo tanto es necesario las vacunaciones repetidas.

El fenol comunmente empleado en la elaboración de bacterinas tiene la propiedad a altas concentraciones, de combinarse con las proteínas, coagulándolas, lo que constituye la

base de su acción germicida actuando en forma inespecífica como un veneno protoplasmático general; a concentraciones bajas no se produce precipitación protéica y la acción deletérea sobre las bacterias se debe a la inactividad de los sistemas enzimáticos necesarios para el metabolismo bacteriano (7).

El formol ofrece un mecanismo de acción similar (5).

La estreptomycinina es un antibiótico que actúa inhibiendo la síntesis de proteína debido a que se une al ribosoma a nivel de la unión con el ácido ribonucléico mensajero transformando la unión de este último e impidiendo la síntesis protéica normal, lo que lleva a la perturbación de diversos sistemas enzimáticos bacterianos tales como los que intervienen en el ciclo tricarboxílico (26) (1) (10) (11).

El carbonato y el fosfato de calcio, son sustancias adyuvantes, que son capaces inespecíficamente de aumentar la cantidad y duración de la respuesta inmunitaria.

Las bacterinas inoculadas inducen a la producción de anticuerpos que pueden ser detectados mediante diversas pruebas serológicas. La más usada y recomendada por Carter en el caso de la *Pasteurella* es la hemaglutinación pasiva (Portadores inertes). Los portadores de antígenos más útiles para este tipo de reacciones son los glóbulos rojos.

Para absorber el antígeno a los eritrocitos es preciso tratarlos previamente con ácido tánico; algunas antígenos tienen afinidad natural por la superficie de los eritrocitos

y se adsorben directamente.

La prueba de hemaglutinación pasiva a menudo es más sensible que la aglutinación de bacterias debido al tamaño grande de la partícula del antígeno (5). Otra de las formas de determinar la capacidad inmunógena de las bacterinas es la prueba del confrontamiento directo (comunmente utilizada por su facilidad práctica). K.L. Heddleston y P.A. Robers en 1967 administrando pasteurellas muertas por vía oral a 212 pollos, en la prueba de confrontación luego de 10 días de vacunados murieron 112 obteniéndose un 50% de efectividad (13).

Por otro lado Mateev y col. en un estudio comparativo de la inmunidad post-vacunal contra el Cólera aviar con diferentes bacterinas comerciales determinaron que entre los 5 y 30 días de vacunadas las aves, el rango de protección es de un 60 a 80% (18).

Recientemente se han producido y elaborado vacunas en la U.R.S.S. las cuales se han obtenido a partir de la cepa avirulenta (AV) y de la cepa Krasnodar. En los EE.UU.N.A. existen vacunas polivalentes del tipo emulsión hidro-oleosa. Sin embargo, en la mayoría de los casos se aconseja emplear las autovacunas para tratar a los focos aislados (24).

Durante mucho tiempo se han usado bacterinas para controlar la enfermedad especialmente en algunas zonas de los EE.UU.N.A. pero los resultados no han sido satisfactorios (12).

### III.- MATERIALES Y METODOS

#### 1.1.- MATERIALES

- 1.1.1.- Cepa de Pasteurella multocida.
- 1.1.2.- Aves de postura
- 1.1.3.- Ratas adultas
- 1.1.4.- Palomas
- 1.1.5.- Embriones de pollo viables de 8 días de incubación.
- 1.1.6.- Glóbulos rojos de carnero.

#### 1.2.- REACTIVOS

- 1.2.1.- Acido tánico (Q.P.)
- 1.2.2.- Carbonato de Calcio (Q.P.)
- 1.2.3.- Citrato de sodio al 2% (Q.P.)
- 1.2.4.- Cloruro de sodio (Q.P.)
- 1.2.5.- Fenol (Q.P.)
- 1.2.6.- Formol (Q.P.)
- 1.2.7.- Fosfato de potasio monobásico (Q.P.)
- 1.2.8.- Fosfato de sodio dibásico (Q.P.)
- 1.2.0.- Yodo (Q.P.)
- 1.2.10- Alcohol absoluto
- 1.2.11- Agua destilada
- 1.2.12- Coloración Gram.

#### 1.3.- MEDIOS DE CULTIVO

- 1.3.1.- Agar Triptosa Soya; (pH: 7.3)
- 1.3.2.- Agar Triptosa Soya con sangre de equino al 10%.

1.4.- ANTIBIOTICOS

1.4.1.- Penicilina G. Potásica

1.4.2.- Estreptomina (Sulfato de dihidroestreptomina)

1.5.- MATERIALES DE LABORATORIO

1.5.1.- Agujas hipodérmicas (1"x16; 1"x20; 1"x21).

1.5.2.- Autoclave

1.5.3.- Balanza de precisión

1.5.4.- Cubículo

1.5.5.- Estufa

1.5.6.- Horno

1.5.7.- Láminas porta-objetos

1.5.8.- Laminillas cubre-objetos

1.5.9.- Mechero Bunsen (Gas propano)

1.5.10- Microscopio compuesto (Binocular)

1.5.11- Ovoscopio

1.5.12- Pipetas graduadas de 1 cc; 2 cc y 10 cc.

1.5.13- Placas excavadas

1.5.14- Placas Petri

1.5.15- Tubos de centrífuga de 15 cc de capacidad

1.5.16- Tubos de ensayo

1.5.17- Tubos de ensayo con tapas de rosca

2.- METODOS

2.1.- Nuestra cepa original para el presente trabajo fue aislada de un brote de Cólera presentado en una

granja de la localidad de Chíncha.

2.2.- Con la cepa pura se realizaron diversas inoculaciones en aves y embriones para comprobar su patogenicidad y al mismo tiempo exaltar su virulencia así:

2.2.1.- Se siembra la cepa en Agar Triptosa Soya; luego de 48 horas de incubación se hace un lavado del crecimiento con una solución salina (pH:7) hasta obtener una suspensión que corresponda al tubo No.4 de la Escala de Mac Farland el cual fue inoculado en dosis de 0.5 cc tanto por vía intraperitoneal como endovenosa a ratas adultas; en ambas formas de inoculación los animales murieron entre las 8 a 12 horas. Al realizar la necropsia se encontró una septicemia generalizada y a nivel del hígado se hallaron focos necróticos y luego se realizaron las pruebas bacteriológicas correspondientes.

2.2.2.- De la suspensión se inocularon en la cavidad alantoidea de embriones de pollo de 8 días de edad dosis de 0.2 y 0.4 cc muriendo entre las 11 y 24 horas de inoculación; al cabo de este tiempo se efectuó el gram del líquido alantoideo y se comprobó la pureza así como la presencia abundante de Pasteurellas, haciéndose el control bacteriológico para descartar contaminación (exenta de bacterias contaminantes). Los embriones antes de ser abiertos fueron puestos en re

frigeración.

### 2.3.- PREPARACION DE BACTERINAS

- 2.3.1.- Cultivos puros de *Pasteurella multocida* fueron inoculados en embriones viables de 8 días de edad; una vez muertos y comprobada su pureza, se extrajo 1 cc de líquido alantoideo, del cual se inoculó 0.2 cc a otros embriones de igual edad.
- 2.3.2.- En una licuadora se colocaron 2 embriones íntegros sin cáscara más solución salina bufferada (pH:7) en la cantidad de 70 cc licuándose por unos 5 minutos.
- 2.3.3.- Luego se trasvasó todo a tubos de ensayo con tapa de rosca con capacidad de 25 cc cada uno de ellos y se añadieron:
  - 2.3.3.1.- Al 1° tubo: Estreptomocina: 100 mg/cc + Penicilina G: 2,000 U.I./cc.
  - 2.3.3.2.- Al 2° tubo: Fenol para obtener una concentración de 0.5%.
  - 2.3.3.3.- Al 3° tubo: Fenol para obtener una concentración de 0.5% + Ca CO<sub>3</sub> (20 mg/cc).
  - 2.3.3.4.- Las bacterinas fueron diluídas hasta obtener una concentración de 1,200,000 bacterias/cc. (Similar al tubo No.4 de la Escala de Mac Farland).
- 2.3.4.- Cultivos de *Pasteurella* fueron inoculados a ratas adultas en dosis de 0.2 a 0.4 cc por vía intraperitoneal como endovenosa; una vez muertas se hizo una

suspensión del hígado y se inoculó a embriones de 8 días de edad, los cuales murieron a las 12 horas.

Los procedimientos posteriores fueron similares a los utilizados en (2.3.2) y (2.3.3.).

2.3.5.- El tercer método consistió en la inoculación de un embrión y una vez muerto, el pasaje de líquido alantoideo a otro embrión, luego se extrajo asépticamente con una pipeta estéril líquido alantoideo dejándose caer algunas gotas sobre la placa petri que contenía Agar Triptosa Soya, extendiéndose las gotas por toda la placa e incubándose a 37°C. por 24 horas, y procediéndose luego a la cosecha de las colonias con solución salina bufferada (pH:7) centrifugándose por 3 veces con suero fisiológico. La suspensión obtenida se diluyó hasta obtener el tubo No.4 de la Escala de Mac Farland y repartiéndose en cada tubo 25 cc como sigue:

2.3.5.1.- Al 1er. tubo: Estreptomocina; 100 mg/cc + Penicilina G. Potásica: 2,000 U.I./cc

2.3.5.2.- Al 2do. tubo: Fenol para obtener una concentración de 0.5%.

2.3.5.3.- Al 3er. tubo: Fenol para obtener una concentración de 0.5% + CaCO<sub>3</sub> (20 mg/cc).

2.3.6.- Todas las bacterinas se incubaron a 37°C por 24 horas. Luego fueron realizados los gram respectivos para com-

probar su pureza para ser conservados en refrigeración para su posterior inoculación en aves y comprobar así su inocuidad.

#### 2.4.- VACUNACION

2.4.1.- Inicialmente fueron inoculadas 8 aves de postura para comprobar la inocuidad de la bacterina. Se controló por 7 días al cabo de los cuales las aves permanecieron sin presentar sintomatología alguna.

2.4.2.- Se realizó la separación de las aves de postura en lotes de 10 aves y se procedió de la siguiente forma:

No.de lote	Pasteurella activada en	Inactivada en:	Dosis (ml)	Vía de Inoculac.
1	Embrión + T.S.A.	Estreptomina + Penicilina	1	I-M
2	Embrión + T.S.A.	Fenol	1	I-M
3	Embrión + T.S.A.	Fenol + CaCO <sub>3</sub>	1	I-M
4	Embrión-Embrión	Estreptomina + Penicilina	1	I-M
5	Embrión-Embrión	Fenol	1	I-M
6	Embrión-Embrión	Fenol + CaCO <sub>3</sub>	1	I-M
7	Rata + Embrión	Estreptomina + Penicilina	1	I-M
8	Rata + Embrión	Fenol	1	I-M
9	Rata + Embrión	Fenol + CaCO <sub>3</sub>	1	I-M
10	COMERCIAL	Fenol	2	I-M

## 2.5.- TITULACION

- 2.5.1.- A los 15 días de aplicadas las diferentes bacterinas, incluyendo la comercial, se procedió a extraer sangre de todas las aves de la vena braquial.
- 2.5.2.- Posteriormente se refrigeró la sangre para obtener por centrifugación el suero y se conservó a 4°C.
- 2.5.3.- Preparación de las soluciones
- 2.5.3.1.- Suero fisiológico estéril.
- 2.5.3.2.- Glóbulos rojos de carnero lavados y tratados con Acido tánico diluido 1:20,000.
- 2.5.3.3.- Suspensión de Pasteurellas (Tubo No.2 de la Escala de Mac Farland).
- 2.5.4.- Preparación del antígeno para la prueba de hemaglutinación pasiva.
- 2.5.4.1.- Suspensión de glóbulos rojos tratados, se mezclan con la suspensión de Pasteurellas y se mantienen a 37°C durante 1 hora.
- 2.5.4.2.- Luego se centrifugó para eliminar el sobrenadante.
- 2.5.4.3.- A partir del sedimento se preparó una suspensión de glóbulos rojos con las Pasteurellas adsorbidas y se conservó en refrigeración a 4°C.

2.5.5.- PRUEBA DE LA HEMAGLUTINACION PASIVA \* EN PLACA EXCAVADA

Tubo No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
CIN al 0.85%	0	0.45	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1.5	1.5	Testigo
Suero sanguíneo	0.5	0.05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Volumen transferido de la mezcla diluyente suero sanguíneo	0	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1.5	1.5
Solución de hema - tías al 0.5% hemoadsorbidos con Pasteurella ml	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Título obtenido	-	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560	-	-

\* Se realizaron paralelamente las pruebas de control con hematíes no hemoadsorbidos con antígenos.

2.5.6.- PRUEBA DE CONFRONTACION

Inoculación de Pasteurella multocida activada en embrión de pollo sembrada en Triptosa Soya Agar, luego de 15 días de vacunadas las aves.

#### IV.- RESULTADOS

#### TITULO DE ANTICUERPOS EN AVES VACUNADAS CON LAS DISTINTAS BACTERINAS ELABORADAS

TIPO DE BACTERINA	No. DE AVES	TITULO PROMEDIO (H.A. PASIVA)							
		1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280
EMBRION- EMBRION + FENOL + CaCO <sub>3</sub>	10	+	+	+	+	+	+	-	-
EMBRION-T.S.A. + FENOL + CaCO <sub>3</sub>	10	+	+	+	+	+	-	-	-
RATA-EMBRION + FENOL + CaCO <sub>3</sub>	10	+	+	+	-	-	-	-	-
RATA + EMBRION + FENOL	10	+	+	+	+	+	+	+	-
EMBRION + T.S.A. + FENOL	10	+	+	+	+	+	+	-	-
EMBRION + EMBRION + FENOL	10	+	+	+	+	+	-	-	-
EMBRION + T.S.A. + ESTREPTOMICINA + PENICILINA	10	+	+	+	+	+	+	-	-
RATA + EMBRION + ESTREPTOMICINA + PENICILINA	10	+	+	+	+	+	+	-	-
EMBRION + EMBRION + ESTREP- TOMICINA + PENI- CILINA	10	+	+	+	+	+	-	-	-
BACTERINA COMERCIAL	10	+	+	+	-	-	-	-	-

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE CONFRONTACION \* EN AVES VACUNADAS  
 CON LAS DIFERENTES BACTERINAS LUEGO DE 15 DIAS DE VACUNADAS  
 CON 1 ml DE BACTERINA

TIPO DE BACTERINA	No.AVES	No.AVES MUERTAS	% PROTECCION
EMBRION-EMBRION + FENOL + CaCO <sub>3</sub>	10	3	70
EMBRION-T.S.A. + FENOL + CaCO <sub>3</sub>	10	5	50
RATA-EMBRION + FENOL + CaCO <sub>3</sub>	10	5	50
RATA + EMBRION + FENOL	10	2	80
EMBRION + T.S.A. + FENOL	10	2	80
EMBRION-EMBRION + FENOL	10	4	60
EMBRION + T.S.A. + ESTREPTOMICINA + PENICILINA	10	2	80
RATA + EMBRION + ESTREPTOMICINA + PENICILINA	10	2	80
EMBRION-EMBRION + ESTREPTOMICINA + PENICILINA	10	3	70
COMERCIAL	10	6	40

\* Se usó Pasteurella multocida activada en embrión de pollo y sembrada en Triptosa Soya Agar. La dosis de confrontación fue de 0.1 ml (vía intramuscular) de Pasteurella multocida diluída en suero fisiológico ajustado a 80% de transmitancia y diluída a 10<sup>-5</sup>.

## V.- DISCUSION

Universidad San José Gonzaga de Ica  
Facultad de Ciencias Veterinarias  
BIOLOGIA

Las bacterinas contra el Cólera aviar se vienen utilizando desde 1880 para prevenir esta enfermedad, sin embargo en la actualidad no se ha logrado desarrollar una vacuna efectiva con gran capacidad protectora; nosotros, elaborando diferentes tipos de bacterinas hemos logrado observar que las producidas por activación en ratas y embrión de pollo e inactivadas por fenol, se muestran más efectivas tanto en su capacidad productora de anticuerpos como en las pruebas de confrontación dando títulos de  $1/640$  y un margen de protección del 50 al 70%; esto último corroborado por Dougherty, Rodríguez y Antonio, y otros (7) (8) (18) (22).

Sin embargo las pasteurellas activadas de la misma forma anterior pero inactivadas por la asociación estreptomina-penicilina dan títulos de  $1/320$  y a la prueba de confrontación un margen efectivo de un 70 a 80%. Mientras que la vacuna comercial dió títulos promedios del 40%; esto debido quizá al diferente tipo serológico de pasteurella. (3).

De las experiencias anteriores podemos afirmar que las vacunas autógenas muestran un grado protector efectivo, especialmente si antes de la elaboración de la bacterina se exagera adecuadamente la virulencia de la pasteurella. Pero Mattev y col. (18) y otros han demostrado perfectamente que las bacterinas contra el Cólera aviar ofrecen una inmunidad de corta duración que puede llegar hasta los 90 días.

Ante esta situación en la actualidad las bacterinas sólo son utilizadas cuando se presentan brotes de la enfermedad (2) (6) (13).

Por los resultados obtenidos en nuestras investigaciones y por las experiencias de campo con pasteurellas inactivadas con la asociación estreptomycin-penicilina, creemos que podría darse solución al problema del Cólera aviar cuando ya la noxa está presente en el galpón siempre que la vacuna sea autógena.

K.L. Heddleton y P.A. Rebers, obtienen márgenes protectores de un 50% empleando bacterinas comerciales administradas por la vía oral (13).

Mateev y col. en un estudio comparativo de la inmunidad post-vacunal en Cólera aviar obtienen efectos protectores del 60 al 80% en pruebas de confrontación (18).

E.E. Ose y O.A. Muenster, en un método de evaluación de vacunas comerciales obtienen un margen de protección en las pruebas de confrontación que oscila entre el 70 y 80% (19), resultado similar al obtenido por nosotros en las diferentes bacterinas elaboradas, especialmente en la inactivada con los antibióticos (estreptomycin-penicilina), factibilizándose de esta manera su uso como medio profiláctico y terapéutico.

## VI.- CONCLUSIONES

- 1.- Las bacterinas elaboradas por activación de la pasteurella en ratas y en embrión de pollo e inactivadas por fenol mostraron el más alto título promedio de anticuerpos (1/640), y un efecto protector del 70%.
- 2.- Las bacterinas elaboradas por activación de la pasteurella por doble pasaje en embrión de pollo e inactivadas por fenol más el adyuvante ( $\text{CaCO}_3$ ) mostró un título de anticuerpos de 1/320.
- 3.- Las bacterinas elaboradas por diferentes tipos de activación de pasteurella e inactivadas por los antibióticos (estreptomomicina + penicilina) mostraron un título de anticuerpos de 1/320 y un efecto protector del 80%.
- 4.- La vacuna comercial se mostró menos efectiva tanto en la capacidad productora de anticuerpos (títulos de 1/40) como en las pruebas de confrontación) dando un margen de protección del 40%.
- 5.- Las bacterinas contra el Cólera aviar elaboradas a base de antibióticos (estreptomomicina + penicilina), pueden servir como medios profilácticos y terapéuticos, pudiéndose usar efectivamente cuando el brote está presente.

Además planteamos las siguientes recomendaciones:

- 1.- La elaboración de bacterinas a base de antibióticos (estreptomomicina y penicilina) deben de ser usadas dentro de un plazo corto y mantenidos en refrigeración.

2.- Las revacunaciones deben de ser realizadas a los 15 días posteriores a la vacunación, ya que los títulos promedios de anticuerpos en el suero sanguíneo fueron de 1/160.

## VII.- REVISION BIBLIOGRAFICA

- 1.- BUSCH H. and LANE: 1967. Chemotherapy and introductory text. Yearbook Medical Publishers. Inc. Chicago.
- 2.- BIER OTTO. 1965. Texto de bacteriología e inmunología. 12° ed. Edit. Melhoramentos. Brasil. 947 pp.
- 3.- CARTER G.R. 1955. "Studies on pasteurilla multocida I. A haemoagglutination test for the identification of serological types". Amer.Jour.Vet.Res.16:481-484.
- 4.- CARTER G.R. 1970. Texto de bacteriología y virología veterinaria. 3° ed. Edit. Acribia. Zaragoza. Cap.24 1053 pp.
- 5.- DOERGE R.F. 1966. Anti-infective agents. In Wilson C.O. O. and Doerge R.F. Textbook of organic medicinal and pharmaceutical chemistry. 5° Ed. J.B. Lippincott Co. Philadelphia 179.
- 6.- DORSEY W.B. and GILLESPIE. 1970. Texto de enfermedades infecciosas de los animales domésticos. 3° Ed.Edit. Fournier. La Prensa Medica Mexicana. 980 pp.
- 7.- DOUGHERTY E. III. 1953. Disease problems confronting the duck industry. Proc.Book Amer.Vet.Med.Ass.359-365.
- 8.- DOUGHERTY E. 1953. The efficacy of several immunizing agents for the control of fowl cholera in the white pekin duck. Cornell Vet. 43:421.
- 9.- FERNANDEZ M. y MOREYRA H. 1972. Aislamiento de pasteurilla

multocida en aves silvestres y domésticas en una granja de la Provincia de Chincha. Prog.Acad.Med. Vet.U.N. Ica.

- 10.- GALE E.F. 1963. Mechanism of antibiotic action. Pharmacol. Rev.15.481.
- 11.- GARROD L. and O'GRADY F. 1967. Antibiotic and chemotherapy. 2° Ed. E.S. Livingstone Ltd. Edinburgh.
- 12.- GRUMBLES, L.C. 1965. Progress in poultry disease research. Proc. Thirteenth Annual Research Conference (Pfizer). 29 pp.
- 13.- HEDDLESTON K.L. and P.A. REBERS. 1968. Fow cholera: Active immunity induced in chickens and turkeys by oral administration of killed pasteurella multocida. Avian disease Vol.XII-I 129-134.
- 14.- HUEPPE. 1866. Berl. Klin Wchnschr. 23: 753, 776, 794.
- 15.- HERBERT, W.J. 1967: Passive haemoagglutination in handbook of experimental immunology. Ed. D.M. Weir Oxford: Blacwell Scientific Publications.
- 16.- LIGNIERS. 1901. Am.L'Inst. Past. 15-739.
- 17.- LEWIS J.J. 1965. An introduction to pharmacology. 3° Ed. Edit. E.S. Livingtone Ltd. Edinburgh.
- 18.- MATEEV N., NIKOLOV N., TOUZSOUZOVA A., PEYUVSKA T. 1972. II. Comparative studies on post-vaccinal immunity. Active immunoprophylaxis of fowl cholera.Vet. Serv. Vol. X: 4-79.

- 19.- OSE E.E. and O.A. MUENSTER. 1968. A method of evaluation of vaccines containing pasteurella multocida. Amer.Jour.Vet. 28 (9) 1863-1866.
- 20.- PASTEUR L. 1880. De l'attenuation du virus du cholera des poules. Comp.Red.Acad.Asc. 91: 673.
- 21.- PASTEUR L. 1880. Comp. Rend. Acad. Sci. 90: 239, 952, 1030.
- 22.- RODRIGUEZ L. y ANTONIO J. 1964. Inmunidad contra el cólera aviar. Gaceta Veterinaria 8-66.
- 23.- ROBERTS R.S. 1947. An immunologic study of pasteurella septica. Jour. Comp. Path. 57-261-278.
- 24.- SENEVIRATNA. 1971. Enfermedades de las aves. 2º Ed. Edit. Academia. 259 pp.
- 25.- TREVISAN. 1887. Rendiconti reale. Instituto Lombardo de Scienze e Lettere. Milán. 48.
- 26.- UMBREIT W.W. 1953. Mechanism of antibacterial action. PharmacologyRev. 5:275.