

# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



EVALUACION DE CINCO BACTERINAS COMERCIALES  
CONTRA CORIZA DE LAS AVES UTILIZADAS  
EN EL ESTADO DE JALISCO

TESIS PROFESIONAL  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

DIEGO ALFONSO SANGEADO LOMELI

GUADALAJARA, JAL., MARZO 1983.

A MI LETY POR  
TODO LO QUE  
R E P R E S E N T A  
PARA MI

¡ TODO !

A MI MAMA Y A MI HERMANO  
POR SER MI MAS  
FIRME APOYO  
A EMILIA  
LAURA ERIKA  
KAREN  
RAFAEL  
JUAN PABLO  
A MIS TIOS, PRIMOS Y A  
TODA MI FAMILIA

AL M.V.Z. JAVIER RIVERA  
POR SER MI MAESTRO  
MAS QUERIDO

AL M.V.Z. JORGE ZURITA  
Y A CONY  
POR ELLO INCALCULABLE  
DE SU AYUDA

A MIS AMIGOS

MARTHA

DOÑA ALICIA

DON VICTOR

DON EFRAIN

Y A TODOS MIS

COMPAÑEROS

DE LA FACULTAD

Y DE MI TRABAJO

## INDICE

INTRODUCCION -----	1
MATERIAL Y METODOS -----	19
RESULTADOS -----	25
DISCUSION -----	31
CONCLUSIONES -----	35
SUMARIO -----	36
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS -----	37

## INTRODUCCION

La coriza infecciosa es una enfermedad respiratoria ' ' ' aguda de la gallina doméstica; y los signos clínicos incluyen: ' ' ' descarga nasal, inflamación de la cara, lagrimeo, anorexia y diarrea; también pueden acompañar a estos signos traqueitis y aerea culitis. Las aves son susceptibles a cualquier edad; bajando la ' ' ' producción de huevo hasta en un 40% (se ha observado desde un 10% hasta un 40%); la secuela mas común es un estado de portador sano (1). Esta enfermedad es exclusiva de la gallina doméstica, por lo tanto no tiene importancia en salud pública. (5).

### HISTORIA:

En 1920 Beach reconoce que coriza infecciosa es una entidad clínica distinta; pero se le conocía con nombres muy variados: pepita contagiosa, catarro infeccioso, catarro frío y coriza no complicada; pero como afectaba primariamente los pasajes nasales se adoptó el nombre de "coriza infecciosa" (Beach y Schalm -- 1936). Para que se reconociera el agente etiológico, pasaron varios años; porque al principio se mencionaban varias infecciones mezcladas, entre ellas y principalmente la viruela aviaria. En ' ' ' 1931, Deblieck aísla una bacteria hemofílica (1931, 1932), de gallinas afectadas, y reproduce el cuadro en gallinas inmunes a viruela aviaria. Deblieck le llama al organismo: "Bacillus hemoglobinophillus corizae gallinarum". En poco tiempo otros investigadores reportan el aislamiento de un organismo similar, de casos de coriza infecciosa (Nelson 1932, 1933; Delaplane y col. 1934; ---- Schalm y Beach 1934).



Eliot y Lewis en 1934, y Delaplane y col. en el mismo año, independientemente proponen el nombre de "HAEMOPHILLUS GALLINARUM" para el microorganismo; en contraste al propuesto por De-- blicck.

La nomenclatura común sugiere el nombre de "HAEMOPHI-- LLUS GALLINARUM" (Breed y col. 1957) (5). Sin embargo, el agente' causal (Haemophilus) aparentemente ha sufrido un cambio importan-- te en uno de sus factores de aislamiento; por lo tanto el agente' causal, originariamente conocido como "HAEMOPHILLUS GALLINARUM", es ahora clasificado como "HAEMOPHILLUS PARAGALLINARUM" (Zinne--- mann y E.L. Biberstein 1974) (1).

#### ETIOLOGIA:

CLASIFICACION, MORFOLOGIA Y TINCION: "HAEMOPHILLUS PARA GALLINARUM" (H.P.) es una bacteria gram negativa, de tinción po-- lar y no móvil. En cultivos a 24 hrs. aparece en formas redondea-- das o cocobacilos de 1 a 3 milimicras de largo por 0.4 a 0.8 mili-- micras de ancho (6). H.P. es un organismo frágil que no sobrevive fuera del ave afectada por más de 4 a 5 hrs. (1). El organismo '' que se detecta del exudado de los senos infraorbitarios, presenta la característica de tinción bipolar (5). Y al observarlo al mi-- croscopio puede aparecer aislado, en pares o formando cadenas cor-- tas (Delaplane y col. 1934; Schalm y Beach 1936) (6).

FACTORES PARA AISLAMIENTO: Los aislamientos hechos por los primeros investigadores describían que para su crecimiento ne-- cesitaba el H.P., 2 factores: el "X" o hematina y el "V" o N.A.D.

(NICOTIN ADENIN DINUCLEOTIDO), sin ninguna excepción. Aislamientos hechos en 1962 por Hinz y C. Kunjara, Kume, A. Sawata, Y. Nakase y Page, han demostrado que unicamente requiere el factor "V" para su crecimiento (1). La forma reducida de N.A.D. (2.5 mg/ml de medio) (Page 1962 a) o la forma oxidada (20 a 100 mg/ml de medio) (Sato y Shifrine 1965; Cundy 1965 a) es esencial para su crecimiento; además de añadir 1% de suero de pollo para ayudar a su aislamiento (Hinz 1973 a). Un buen número de bacterias excretan el factor "V", entre ellas, Staphylococcus, consecuentemente puede ser usado como cepa nodriza (Page 1962 a). El crecimiento de H.P. sucede a las 24 a 48 hrs. de incubación, apareciendo pequeñas colonias como gotas de 0.3 mm de diámetro, y una característica importante, es que las colonias de H.P. aparecen en forma satélite junto a la cepa nodriza (Staphylococcus) (6). H.P. es facultativamente anaerobio (Eliot y Lewis 1934), pero puede haber crecimiento con atmósfera de dióxido de carbono o tan solo bajando la tensión de oxígeno (5). Las temperaturas mínima y máxima para su crecimiento son de 25° a 45°C respectivamente, con un rango óptimo de 34° a 42°C. El organismo comunmente crece a 37° a 38°C (5).

PROPIEDADES BIOQUIMICAS: El H.P. fermenta un buen número de azúcares pero sin formación de gas, entre ellas estan, en orden de importancia: glucosa, galactosa, manosa, levulosa, sucrosa, maltosa, dextrina; y fermenta muy poco el manitol y la trehalosa. No fermenta la lactosa, inulina, xilosa y salicin. Puede ha

ber diferencias de fermentación de cepa a cepa o de serotipo a serotipo; pero aparentemente no hay diferencia en cuanto a patogenicidad del microorganismo. No produce ácido sulfhídrico, ni indol, no licua la gelatina, no cambia la leche tornasolada, ni reduce el azul de metileno (Samberg y Bornstein 1954), reduce los nitratos a nitritos (Clark y Godfrey 1961; Page 1962 a) y es catalasa negativa (Page 1962 a) (5). En los tubos de los azúcares en incubación aeróbica a 37°C a 24 a 48 hrs., se nota un cambio en pH, bajándolo a 6.5 o menos, esto se considera positivo a H.P. (1).

RESISTENCIA A LOS AGENTES FISICOS Y QUIMICOS: H.P. es un organismo delicado que muere facilmente fuera del hospedero, exudado nasal suspendido en agua a temperatura ambiente lo inactiva en 4 hrs. (Page 1962 b); cuando el exudado nasal se suspendió en solución salina fosfato buferada (P.B.S.) a 22°C, se inactivó hasta 24 hrs. después (Deblieck 1934), a 4°C el exudado nasal permanece infeccioso por varios días. A temperatura entre 45° a 55°C H.P. muere en 2 a 10 minutos (Eliot y Lewis 1934). Los fluidos de embrión de pollo infectados, tratados con 0.25% de formalina se inactivan en 24 hrs. a 6°C (Page y col 1963); pero el organismo sobrevive varios días en condiciones similares, tratado con merthiolate 1:10 000 (Clark 1975). Puede mantenerse el organismo con pases semanales en placas de agar sangre, y cultivos jóvenes se mantienen por 2 semanas en anaerobiosis a 4°C. Otra buena vía es, inocular embriones de pollo de 6 a 7 días de incubación vía saco vitelino; se recolecta el vitelo de los embriones muertos en las

primeras 24 a 48 hrs. post-inoculación, ya que éste contiene gran cantidad de organismos, y se congela a  $-20^{\circ}$  hasta  $-70^{\circ}\text{C}$  o se liofiliza; de este modo se puede mantener el H.P. por pasajes mensuales en embrión de pollo. Liofilizado dura hasta 10 años (Yamamoto 1972) (6).

TIPOS ANTIGENICOS: Han sido descritos 3 tipos antigénicos de H.P. (Page 1962 a; Page y col. 1963). Page clasificó al H. P. con la prueba de aglutinación en placa en los serotipos: "A", "B" y "C". Las bacterinas preparadas con un solo serotipo, mostraron cierto grado de protección contra el serotipo heterólogo; esto nos indica que comparten antígenos comunes. Page encontró al tipo "A" en California y Hinz encontró en Alemania los serotipos "A" y "B" (1973 b). Aunque la mayoría de las muestras fueron tipo "B".

Existe una cepa que es catalasa positiva, y necesita todos los factores de crecimiento de H.P.; inclusive produce pigmento en presencia de glucosa; este organismo debe ser clasificado únicamente como "HEMOPHILUS" y no debe confundirse con H.P.

PATOGENICIDAD: Las características que aparecen de la enfermedad son: una coriza de corta incubación, con desarrollo dentro de 24 a 48 hrs. después de la inoculación intranasal o intrasinusal con un cultivo o exudado.

Varios estudios han demostrado que la coriza producida por cultivo es de más corta duración (6 a 14 días), que la producida por exudado de senos infectados (50 días o más) (Nelson 1933

Schalm y Beach 1936 a). Muchos investigadores han encontrado que H.P. pierde virulencia en cultivos artificiales; disminuyendo así la duración de la enfermedad inducida por cultivos. Con 30 a 40 pases se han encontrado H.P. totalmente avirulentos (Nelson 1933; Deblieck 1934) (5). Sin embargo, el curso de la enfermedad puede prolongarse si se complica con otras enfermedades respiratorias; bronquitis infecciosa, *Mycoplasma gallisepticum* o *Pasteurella*(3). Aunque por lo general H.P. no causa mortalidad alta, Delaplane y col. (1933) encontraron brotes con mortalidad muy alta. El organismo aislado por estos investigadores fue altamente toxigénico, la inoculación subcutánea a pollos con este organismo, resultó en severa inflamación local y reacciones tóxicas generalizadas; los pollos inoculados por cavidad nasal demostraron extenso edema en la cabeza y la región de la nariz.

Page en 1962 a, también describe una cepa altamente virulenta (cepa 0083) que produjo aerosaculitis en el 60% de los pollos inoculados por vía intranasal. Las lesiones de sacos aéreos descritas por varios autores parecen ser un incidente casual, ya que la enfermedad sólo involucra las vías respiratorias altas (Beach y Schalm 1936). Las observaciones de la enfermedad en brotes naturales pueden variar en severidad y curso, pueden ser también puras o mezcladas con otras enfermedades y con la variación en virulencia del organismo. Las diferencias individuales del ave pueden ser también un factor importante (Beach y Schalm 1933) (5).

La enfermedad causada por la gran mayoría de cepas ais-

ladas actualmente es igual a la descrita por Beach y Schalm en'' 1936 (Kato 1965 b; Matsumoto y Yamamoto 1971; Hinz 1975). Cundy - (1965 a), caracteriza la endotoxina de H.P. (cepa 0083) en un lipopolisacárido, similar al de otras bacterias gram negativas; la toxina fue antigénica pero no protectora cuando se inyectó a pollos; no se observaron reacciones tóxicas cuando se inocularon pollos intravenosa e intramuscularmente (6). Esta endotoxina mató embriones de pollo en 24 hrs., cuando se inoculó por membrana corioalantoidea, produciendo hemorragias petequiales en la piel, y hemorragias y edema perivascular en cerebro (5).

Han sido descritas 2 variantes de H.P.: 1ª La mucoide encapsulada o "M" y 2ª La rugosa sin encapsular o "R". La variante "M" fue patógena para pollos y disocia "in vivo" la "M" a la "R" en etapas tardías de la enfermedad (17 días). La variante "R" no fue patógena aunque disocia "in vivo" con la tipo "M" por causar, ésta, la enfermedad (Hinz 1976). Kato (1967) identifica 3 variantes en fenotipo: "a", "b" y "c" de H.P. que difieren en su habilidad para hemoaglutinar eritrocitos de: caballo, vaca, oveja, pollo y cobayo. La variante "a" aglutina eritrocitos de todas las especies; el tipo "b" aglutina solo de unos pocos; y el tipo "c" no aglutina eritrocitos de ninguna especie. Bajo condiciones "in-vitro", el tipo "a" disocia con el tipo "b", el "b" con "a", y el "c" con "b". Cuando el tipo "a" fue inyectado en pollos, la flora cambio lentamente de "a" a "b" y de "b" a "c", a los 25 días post inoculación la mayoría de los *Haemophilus* fueron tipo "c". Ambos

tipos "a" y "b" fueron encapsulados y patógenos, y el tipo "c" fué no encapsulado y apatógeno. Parece que las variantes "a" y "b" de Kato, encajan a la descripción de la variante "M" y el tipo "c" encaja con la variante "R" de Hinz. Esto es de interés al especular si H.P. se perpetua en el hospedero continuamente, disociado en la forma "R" durante periodos interepizooticos (6).

#### PATOGENESIS Y EPIZOOTIOLOGIA:

HOSPEDERO NATURAL Y EXPERIMENTAL: La gallina doméstica (Gallus domesticus) es el hospedero natural de H.P.. Todas las edades son susceptibles, pollos de 3 a 5 días de edad tienen alguna resistencia, pero la coriza fué rutinariamente producida en pollos de 7 días de edad por inoculación intranasal (Eliot y Lewis 1934). Beach y Schalm (1936) encontraron que pollos de 4 semanas hasta 3 años fueron susceptibles pero observándose una variación individual considerable en resistencia a la enfermedad. Kato y Tsubahara (1962 b) reproducen los signos típicos de coriza en un 90% de pollos de 4 a 8 semanas y en un 100% en pollos de 13 semanas y más viejos; el periodo de incubación se acortó y el curso de la enfermedad se prolongó en las aves viejas.

La enfermedad ha sido infrecuentemente diagnosticada en faisanes (Delaplane y col. 1934; Angstrom y col. 1965; Henderson 1967) y un caso ha sido reportado de un pollo de Guinea (Angstrom y col. 1965; Yamamoto 1972). Las especies que son refractarias a la infección experimental son: paloma, gorrión, pato, cuervo, conejo, cobayo y ratón (Delaplane y col. 1934; Deblieck 1934; Beach

y Schalm 1936; Page 1962 a; Yamamoto y Clark 1966). Algunos investigadores dicen que los pavos no son susceptibles y otros que sí lo son, se ha observado que si no hay infección previa con *Mycoplasma gallisepticum*, no les afecta H.P., la infección natural en pavos no ha sido observada.

TRANSMISION Y PERIODO DE INCUBACION: Las aves portadoras asintomáticas y crónicas sirven como reservorio de la infección. La enfermedad ocurre más frecuentemente en los meses de otoño e invierno, aunque estos patrones estacionales pueden coincidir con las prácticas de manejo. En granjas donde se manejan aves de diferentes edades, tiende a arraigarse y prolongarse a todos los grupos de todas las edades. Los gorriones no están implicados como vectores; sin embargo, estudios epizootiológicos sugieren la transmisión por el aire como posible causa de la infección en granjas aisladas.

En aves susceptibles expuestas por contacto a otras aves infectadas, usualmente se observan signos en 1 a 3 días.

SIGNOS: Los signos más notorios envuelven los pasajes nasales y los senos infraorbitarios, con descarga nasal mucoideserosa, edema de la cara y conjuntivitis. Puede ocurrir con hinchazón de las barbillas, particularmente en machos. La infección del tracto respiratorio bajo, puede ocurrir, causando estertor (Beach y Schalm 1936).

Ocasionalmente las gallinas tienen diarrea y usualmente el consumo de agua y alimento disminuyen; provocando esto un re-



traso en el crecimiento o una baja en la producción de huevo. Puede detectarse un olor extraño donde la enfermedad se encuentra en forma crónica o complicada con otras enfermedades.

MORBILIDAD Y MORTALIDAD: La virulencia del organismo '' puede alterar el curso de la enfermedad. Han sido descritas cepas altamente toxigénicas por Delaplane y col. 1934, que pueden causar altas mortalidades. Esta es una enfermedad que usualmente tiene poca mortalidad y alta morbilidad. Factores complicantes como casetas descuidadas, parasitismos y nutrición inadecuada; pueden añadir severidad y duración a la enfermedad.

Cuando se complica con otras enfermedades es más severa y complicada aumentando la mortalidad, enfermedades como: Mycoplasma gallisepticum, bronquitis infecciosa, Pasteurella y laringotraqueitis infecciosa (Yamamoto 1972) (vease patogenicidad).

LESIONES: H.P. produce una inflamación catarral y mucopurulenta aguda de las membranas mucosas de los pasajes nasales y senos. Frecuentemente ocurre una conjuntivitis catarral y edema subcutáneo de la cara y barbillas. Pueden estar presentes neumonía y aerosaculitis (Page 1962 a, b).

HISTOPATOLOGIA: Fujiwara y Konno en 1965, estudiaron la respuesta histopatológica desde 12 hrs. hasta 3 meses después de la inoculación intranasal. Los cambios esenciales en la cavidad nasal, senos infraorbitarios y traquea son: descamación, desintegración e hiperplasia de la mucosa y epitelio glandular y edema e hiperemia con infiltración heteroflica de la túnica propia de la

membrana mucosa. Los primeros cambios patológicos observados a ' 20 hrs. alargan la severidad a un máximo de 14 a 21 días. En galli nas donde se afectan las vías respiratorias bajas, se observa una aguda bronconeumonía catarral, heterofilia y detritos celulares ' en el lumen secundario y terciario de los bronquios; las células' epiteliales de los capilares aéreos pueden estar inflamados y mos trar hiperplasia. La inflamación catarral de los sacos aéreos fue caracterizada por hinchazón e hiperplasia de las células con abun dante infiltración heterofílica. Resultados similares han sido re portados por otros investigadores (Adler y Page 1962; Raggi y col 1967).

INMUNIDAD: Los pollos que se recuperan de la infección' activa poseen variados grados de inmunidad a una reexposición (Pa ge y col. 1963). Las pollitas que han padecido la enfermedad en ' su etapa de crecimiento están generalmente protegidas en su etapa de producción de huevo, contra un rebrote. La resistencia a un re brote en aves por individual, puede iniciarse en unas 2 semanas a partir de la exposición inicial por vía intrasínusal (Sato y Shi frine 1964). Esta información no es útil en inmunidad pasiva a la infección por H.P. (5, 6).

DIAGNOSTICO:

AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DEL AGENTE CAUSAL: Muchos' medios diferentes han sido desarrollados para soportar el creci miento de H.P. (Bornstein y Samberg 1954; Kato 1965 a). H.P. se ha considerado como un organismo fastidioso, pero no de aislamiento'

difícil, requiere un medio y procedimiento simples. Los especímenes pueden ser tomados de 2 ó 3 pollos con estado agudo de la enfermedad (1 a 7 días de incubación). La piel debajo de los ojos se cauteriza con una espátula de fierro, caliente; y se incide a nivel del seno infraorbitario con una navaja estéril. Se inserta un hisopo estéril dentro de la cavidad del seno infraorbitario que es donde el H.P. se puede encontrar en forma más pura; también de exudado de tráquea y saco aéreo pueden tomarse muestras. Con el hisopo se forman estrias en una placa de agar sangre (de caballo, bovino, oveja, ave o conejo). La estria del hisopo es cruzada con una cepa de *Staphylococcus epidermidis* e incubada a 37°C en anaerobiosis (6). El crecimiento de colonias pequeñas y translúcidas en 24 a 48 hrs. nos indica a H.P.. Puede ser probado por la actividad de catalasa, poniendo un poco de cultivo con una gota de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) al 3% (5). Una especie de "Haemophilus" no patógeno puede ser cultivado de los senos, pero la diferencia es que H.P. es catalasa negativo, mientras que "Haemophilus" es catalasa positivo (8).

Un diagnóstico de coriza infecciosa puede estar basado en la historia clínica o sea una difusión rápida de la enfermedad con manifestaciones de coriza; junto con aislamiento de un bacilo gram negativo, catalasa negativo y mostrando crecimiento satélite. El organismo puede ser caracterizado por pruebas bioquímicas y serológicas (vea las secciones: propiedades bioquímicas y serología) (5). Otro eficiente y usado procedimiento de diagnóstico, es ino-

cular del exudado de los senos o del cultivo 2 ó 3 pollos normales. La producción de una coriza en 24 a 48 hrs. confirma el diagnóstico. Sin embargo, el periodo de incubación puede prolongarse una semana o más, si solamente se inculó un pequeño número de bacterias (5).

SEROLOGIA: Las pruebas serológicas comunmente usadas incluyen: la aglutinación en placa, difusión en agar-gel, e inhibición de la hemoaglutinación.

3 serotipos han sido descritos por la prueba de aglutinación en placa, los 3 serotipos comparten antígenos comunes, es posible preparar un antígeno a partir de una cepa con serotipo específico para detectar aglutininas de tipos heterólogos. El tipo 1 de hemoaglutinina de H.P. fue encontrado únicamente en los serotipos "A" y "B" de Page y en el "I" y "III" de Kato, el tipo 2 de hemoaglutinina fue encontrado en todos los serotipos de H.P. (2). Las aglutininas en el suero pueden ser detectadas de 10 a 14 días post-infección, pudiendo durar 1 año.

Los anticuerpos para la prueba de difusión en agar-gel aparecen en el suero 2 semanas post-infección o vacunación, durando 11 semanas.

Para la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (IH A), se utiliza la cepa 221 de Kato (serotipo "A"). La prueba de IHA no detecta anticuerpos tan rápidamente como las pruebas de aglutinación en placa o difusión en agar-gel; una respuesta de IHA positiva en aves vacunadas puede ser correlativa con inmuni-

dad (1).

Otras pruebas menos usadas son: fijación de complemento directo (Kato y col. 1962); hemoaglutinación indirecta (Hinz 1976) la técnica directa de anticuerpos fluorescentes ha sido aplicada para identificar H.P. de cultivos o de tejidos infectados (Corstvet y Sadler 1964; Peters y col. 1968) (5, 6).

DIAGNOSTICO DIFERENCIAL: La infección por H.P. debe ser diferenciada de otras enfermedades respiratorias crónicas o agudas de las aves como: micoplasmosis, cólera aviaria crónica, viruela aviaria y avitaminosis "A"; que producen signos clínicos similares. Se ha venido mencionando un "Haemophilus" apatógeno, en algunos párrafos de este trabajo, pues bien, ha sido recientemente clasificado como "HAEMOPHILLUS AVIUM" (Hinz y C. Kunjara 1977) algunas características diferentes existen entre "H AVIUM" y H.P. "H. AVIUM" es catalasa positivo; utilizando galactosa y trehalosa da colonias pigmentadas y crece aerobicamente (6).

TRATAMIENTO: Varias sulfonamidas y antibióticos se han utilizado para aliviar la severidad y duración de la enfermedad (6), ya sea en alimento, agua o parenteralmente (8). Sin embargo, ninguno de los agentes terapéuticos corrientemente usados han sido bactericidas, por lo que el tratamiento es descontinuado y el estado de portador sintomático o asintomático continua.

El sulfatiazol fue una de las primeras sulfas utilizadas (Page 1962 b), después se uso la estreptomycin (Bornstein y Samberg 1955), le siguió la eritromicina y la oxitetraciclina (Pa

ge 1962 b), después el tiocianato de eritromicina y la espectinomicina (Hanly y col. 1968), la sulfadimetoxina (Mitrovic 1967), el tartrato de tylosina (Farid y col. 1966), la sulfaclorpirazina y sulfadimidina (Buys 1972), clortetraciclina y sulfadimetoxina (Kato y col. 1967), sulfamonometoxina (Kato 1968), un nitrofurano llamado furmizole (Ota y col. 1967). Y a pesar de nuevas investigaciones y combinaciones de antimicrobianos, no se ha encontrado una droga bactericida y el estado de portador sintomático o asintomático sigue (5).

PREVENCION Y CONTROL:

PROCEDIMIENTOS PARA MANEJO: Deben separarse las aves -- portadoras porque de ahí se origina la enfermedad, igual práctica al comprar machos para reemplazos.

INMUNIZACION: El metodo más reciente para la prevención de coriza infecciosa es la vacunación o bacterinización (5). Se pueden conseguir comercialmente bacterinas propagadas en embrión de pollo o en caldo, conteniendo 1 o más serotipos, en E.U.A. ya está a la venta una vacuna de H.P. vivo modificado (1).

Las bacterinas inactivadas con merthiolate o formalina y potencializadas con un adyuvante, son administradas intramuscular o subcutáneamente sin ningún problema en aves de 5 semanas o más (1); 2 aplicaciones con intervalos de aproximadamente 3 semanas antes de las 20 semanas de edad, han mostrado efectividad contra brotes en la etapa productiva de las gallinas; en comparación con una sola aplicación (Price y col. 1967; Bell 1968; Matzer ---

1974). La bacterina también reduce pérdidas, si se aplica a pollitas en desarrollo, en zonas endémicas a H.P. (6). Pollitas vacunadas a las 16 semanas de edad, mantienen grados significativos de inmunidad para el desafío a las 27 semanas (Bell 1968) (6).

Las bacterinas propagadas en embrión de pollo se consiguen en el mercado comunmente, el producto es fácil de preparar - pero debe contener  $10^8$  UFC/ml para que sea inmunogénica (Clark y Godfrey 1961; Page y col. 1963).

Bacterinas preparadas en caldo, inactivadas con merthiolate y potencializadas con hidróxido de aluminio han sido encontradas más efectivas que las producidas en embrión (Matsumoto y Yamamoto 1971; Davis y col. 1976 a).

El organismo se propaga en infusión carne de pollo de Hofstad y Doerr (1956) (Matsumoto y Yamamoto 1971), BHI (Difco) (Ortiz y Yamamoto 1974), y modificador Casman (Rimler y col. 1975) caldos a títulos de  $10^8$  UFC/ml o mayores en 24 a 36 hrs., siendo  $10^8$  UFC/ml la mínima dosis protectora (Matsumoto y Yamamoto 1975). La centrifugación no es un paso necesario en la producción de bacterina (Ortiz y Yamamoto 1974). Se han comparado las bacterinas de origen de embrión de pollo contra las de origen en caldo, teniendo ésta última significativa gran protección para el tracto respiratorio, bajas en la producción de huevo, y contra pérdidas de peso, resultando en pocas aves portadoras (Matsumoto y Yamamoto 1971); confiere inmunidad por 9 meses (3 meses la de origen de embrión), y un alto rango de conversión serológica (aglutinación)

post-vacunación (Matsumoto y Yamamoto 1971, 1975); la prueba de IHA puede ser usada para determinar la inmunidad protectora post-aplicación de la bacterina (Kato 1970; Otsuki e Iritani 1974).

Contrariamente a lo encontrado por Page y col. en 1963, recientes trabajos indican que la protección cruzada entre serotipos (Kato 1967) y en algunos casos entre los mismos serotipos (Matsumoto y Yamamoto 1975; Davis y col. 1976 b) es mínima. Hay bacterinas mezcladas con virus inactivados de bronquitis o Newcastle con H.P. (Yoshimura y col. 1972; Otsuki e Iritani 1974) (6).

Otra manera de prevención contra la coriza infecciosa en áreas endémicas es la práctica de la exposición controlada. Esto está basado en que las pollitas que durante su crecimiento padecen la coriza son muy resistentes a la enfermedad en su etapa de producción.

El procedimiento usual es: vacunar a las pollitas entre las 15 y 18 semanas de edad, y exponerlas al H.P. vivo patógeno (de cultivo o exudado de aves afectadas, de la misma granja) a las 20 semanas. Las aves que muestren signos severos pueden ser tratadas parenteralmente con antimicrobianos. La exposición controlada es peligrosa, sobre todo si se complica, por lo tanto debe supervisarla un médico veterinario (Allen 1967) (5).

ERRADICACION: Es necesario vaciar la granja donde han habido brotes porque las aves recuperadas son reservorios de la enfermedad. El método de erradicación depende de las condiciones y circunstancias de la granja: tamaño de la parvada, facilidades



y fin zootécnico de la parvada. Las aves afectadas pueden mandarse al mercado de una sola vez y las instalaciones y el equipo se lavan y desinfectan antes de repoblar la granja. Otro método más popular es tratar la parvada afectada y mantener en aislamiento a los reemplazos. El H.P. puede sobrevivir en el exudado por varios días a bajas temperaturas, por lo tanto una caseta mal lavada y desinfectada, puede producir un nuevo brote hasta por una semana, sobre todo en los meses fríos (5, 6).

## MATERIAL Y METODOS

### MATERIAL BIOLÓGICO:

- 1.- 120 machos Leghorn de 8 semanas de edad.
- 2.- 5 bacterinas comerciales contra coriza infecciosa, (identificadas como: 1, 2, 3, 4 y 5).
- 3.- Cepa de desafío de H.P., aislada de una granja de postura.
- 4.- 40 embriones de pollo de 6 días de incubación.
- 5.- Alimento, etapa: desarrollo de pollona.
- 6.- Agua potable.
- 7.- Oxitetraciclina.

### MATERIAL DE LABORATORIO:

#### a).- EQUIPO:

- 1.- Tubos de ensaye.
- 2.- Cajas de Petri.
- 3.- Pipetas.
- 4.- Jeringas y agujas.
- 5.- Hisopos de algodón.
- 6.- Gradillas.
- 7.- Mechero.
- 8.- Ovoscopio.
- 9.- Batería de 5 pisos.

#### b).- MEDIOS DE CULTIVO:

- 1.- Medio líquido de tioglicolato.
- 2.- Agar para infusión de cerebro-corazón.
- 3.- Agar de verde brillante.
- 4.- Caldo de tripticaseina y fosfato.

## 5.- Azúcares para bioquímica.

### MÉTODOS:

Para la elaboración de éste trabajo se siguieron 3 procedimientos:

- 1º Checar la esterilidad de las bacterinas (o contaminantes).
- 2º Aislamiento y conservación de la cepa de H.P. para desaffo.
- 3º Aplicación de las bacterinas a las aves, desaffo' y lectura de síntomas.

Método nº 1: Prueba de esterilidad para bacterinas de ' H.P.: inocular el 1% de la bacteria en medio líquido de tioglicolato (5 tubos), incubar a 37°C para resembrar en 3 ocasiones, a ' las 48, 96 y 144 hrs. respectivamente, en agar para infusión de ' cerebro-corazón (3). Si se observara crecimiento, se hace tinción de Gram, para identificar el tipo de bacteria, si se observan cocos, se identifican directamente; si son bacilos gram negativos, ' se resiembra en agar de verde brillante para purificar las colonias; el siguiente paso es, correr la bioquímica completa, y así ' identificaríamos la bacteria contaminante. Interpretación: no debe observarse crecimiento en ninguna de las 3 resiembras, en bacterinas inactivadas (3). (este proceso se sigue por cada una de ' las bacterinas a muestrear, en éste caso fueron 5).

Método nº 2: La cepa de desaffo de H.P. se obtuvo de gallinas de postura Leghorn, de una granja ubicada en el municipio'

de Cortazar, Gto.

Se aisló el H.P. a las 24 hrs. en medio de agar para infusión de cerebro-corazón con 1% de suero de pollo, posteriormente se inocularon embriones de pollo de 6 días de incubación, vía' saco vitelino; y 2 machos Leghorn, con un concentrado que se preparó de exudado nasal en caldo tripticasefina y fosfato; los em---briones murieron a las 24 hrs. de inoculados, recolectándose el 'saco vitelino infectado, el cual se congeló a  $-20^{\circ}\text{C}$ ; los 2 machos presentaron los síntomas clásicos de coriza a las 48 hrs. post---inoculación.

Se inocularon otros 2 machos con el vitelo recolectado' y se reprodujo el cuadro de coriza a las 24 hrs. post-inoculación, se mantuvieron las 4 aves hasta una semana antes del desaffo, y 'se repitió el procedimiento mencionado en el párrafo anterior, se hizo conteo de UFC/ml del vitelo recolectado y se inoculó 0.2 ml' por seno infraorbitario (0.4 ml por ave).

Método n° 3: Se manejaron 120 machos Leghorn de 7 semanas al iniciar la prueba, se mantuvieron una semana antes de la 'primera aplicación de bacterina, para disminuir el stress del cambio de la granja al local donde se realizó la prueba. Se hicieron 3 aplicaciones de bacterina con intervalos de 2 semanas cada uno.

Las aves se colocaron en una batería de 5 pisos, dejando 20 machos por piso; se numeraron los pisos del 1 al 5; quedando el piso número 1 para las aves de la bacterina n° 1, el piso 'n° 2 para las aves de la bacterina n° 2, y así sucesivamente. El'

grupo de animales control quedó también de 20 machos y se maneja-  
ron en un cuarto diferente al del resto de las aves.

La aplicación de la primera dosis de bacterina se hizo' cuando los machos tenían 8 semanas de edad, siguiendo las instrucciones del fabricante, vía subcutánea, en la región dorsal del --  
cuello y con las dosis como sigue:

Bacterina n° 1 y n° 2: primera dosis 0.5 ml, segunda y'  
tercera dosis 1 ml.

Bacterina n° 3: primera, segunda y tercera dosis 1 ml.

Bacterina n° 4: primera, segunda y tercera dosis 0.5 ml.

Bacterina n° 5: primera y segunda dosis 0.5 ml, tercera  
dosis 0.7 ml.

El desaffo se llevo a cabo 14 días después de la terce-  
ra aplicación de bacterina, o sea, cuando los machos tenían 14 semanas de edad; aplicando 0.2 ml de saco vitelino infectado con H. P., en cada seno infraorbitario (0.2 ml por seno) a los 120 ma---  
chos. (La prueba se realizó con un calendario tan cerrado por factores económicos).

La lectura de síntomas se hizo como sigue: se utiliza--  
ron valores numéricos, como sigue: 0 = negativo, 1 = leve, 2 = mediano y 3 = fuerte; para calificar: lagrimeo, exudado nasal e in-  
flamación de la cara; para cada lado independientemente; esto por  
cada ave y por grupo, en una tabla como la que aparece en la figura  
n° 1.

Es importante hacer notar, que en ésta tabla aparece un

	LAGRIMEO		EXUDADO		HINCHAZON		SUB-TOTAL
	IZQ.	DER.	IZQ.	DER.	IZQ.	DER.	
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							
16							
17							
18							
19							
20							
<b>TOTAL</b>							



- 0 = NEGATIVO
  - 1 = LEVE
  - 2 = MEDIANO
  - 3 = FUERTE
- 
- 18 MAXIMO



FIGURA No. 1

sub-total, que equivale a la calificación de cada ave, estos sub-totales al final se suman, dando así un total de grupo; determinándose de éste el promedio del grupo, punto clave para la evaluación y la comparación entre cada uno de los grupos.

Puntos a determinar en base al promedio: lugar que ocupan en la tabla general, los grupos; porcentaje de afectados; y porcentaje de recuperación. Los 2 últimos puntos, son por grupo, comparados todos, en la tabla general.

Las lecturas de síntomas se harán los días: 3º, 5º, 7º, 9º, 12º, 15º y 17º; post-desaffo.

## RESULTADOS

1.- Resultados del chequeo de esterilidad de las bacterinas:

Bacterina n° 1: Alcaligenes faecalis (5 de 5 muestras).

Bacterina n° 2: Alcaligenes faecalis (3 de 5 muestras).

Bacterina n° 3: Alcaligenes faecalis (1 de 5 muestras).

Bacterina n° 4: Negativa.

Bacterina n° 5: Negativa.

Nota: Ésta prueba se realizó 2 veces, y los resultados fueron los mismos.

2.- a) Aplicación de las bacterinas a las aves.

b) Desaffo.

c) Lectura de síntomas.

a).- Después de la aplicación de las bacterinas no se notaron cambios en las aves; excepto en el grupo de la bacterina n° 4, que después de la segunda dosis, mostró inflamación en la parte posterior del cuello (zona de aplicación), desapareciendo ésta, hasta 6 días después.

De aquí en adelante ningún grupo mostró alteraciones a la aplicación de las bacterinas.

b).- A las 24 hrs. del desaffo, los animales sólo se notaron decaídos; no así a las 48 hrs., donde empezaron a mostrar inflamación de la cara y exudado nasal; a las 72 hrs., los síntomas eran de una coriza aguda en la mayoría de las aves de los 6 grupos, iniciando aquí la lectura de síntomas.

c).- Los resultados aparecen en la tabla general, figu-



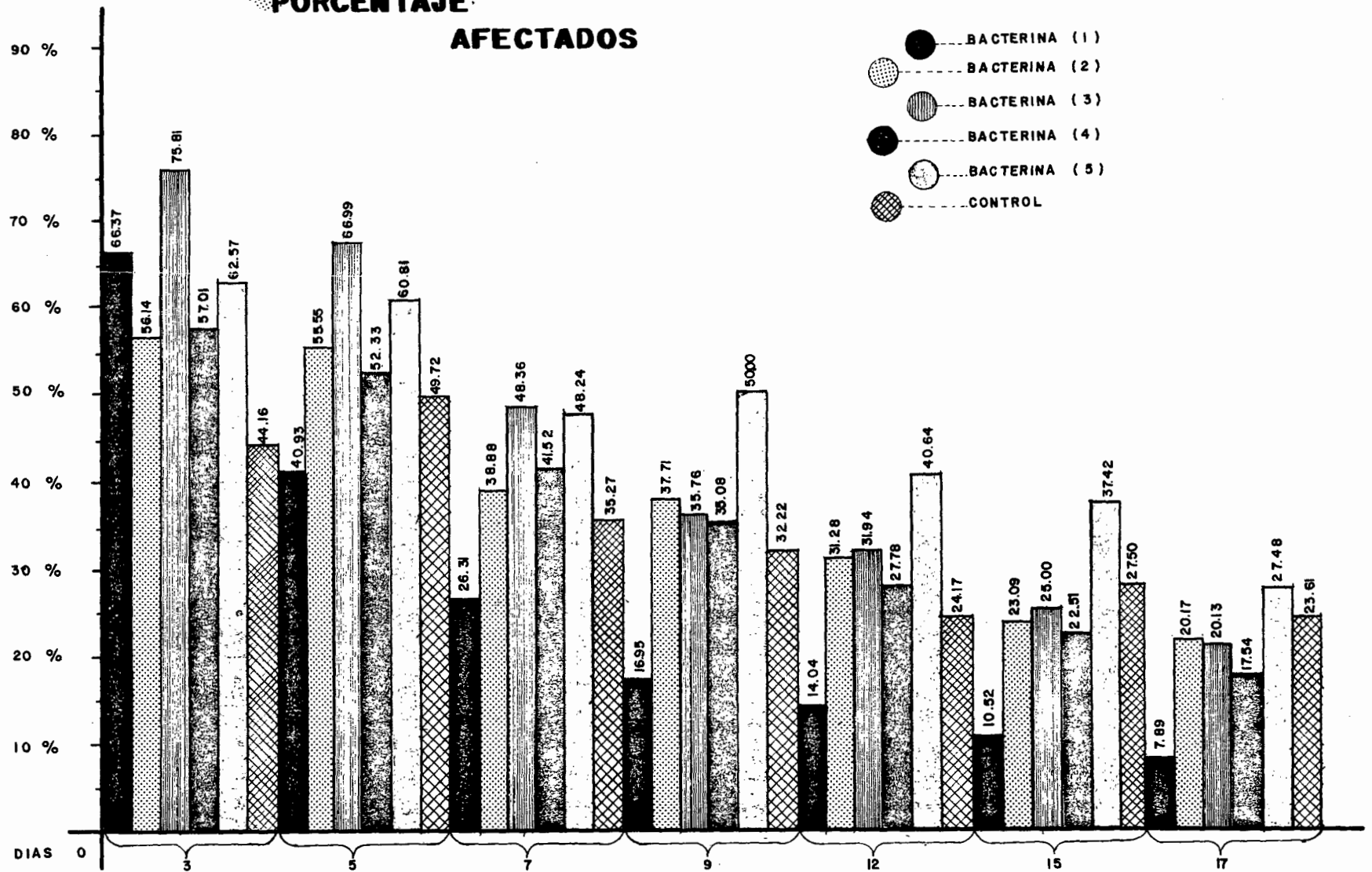
ra nº 2, y se ilustran en las gráficas que aparecen en las figuras nº 3, 4 y 5.

T  
A  
B  
L  
A  
  
G  
E  
N  
E  
R  
A  
L

BACTERINAS	D I A	TOTAL	PROMEDIO	EFFECTOS	RECUPERACION	L U S A R
BACTERINA - 1	3°	227	11.94	66.37 %	0 %	4°
	5°	140	7.36	40.93 %	38.35 %	1°
	7°	90	4.73	26.31 %	60.38 %	1°
	9°	58	3.05	16.95 %	74.45 %	1°
	12°	48	2.53	14.04 %	78.81 %	1°
	15°	36	1.89	10.52 %	84.17 %	1°
	17°	27	1.42	7.89 %	88.10 %	1°
BACTERINA - 2	3°	192	10.10	56.14 %	0 %	1°
	5°	190	10.00	55.55 %	0.99 %	3°
	7°	133	7.00	38.88 %	30.69 %	2°
	9°	129	6.78	37.71 %	32.67 %	4°
	12°	107	5.63	31.28 %	44.25 %	3°
	15°	79	4.15	23.09 %	58.91 %	3°
	17°	69	3.63	20.17 %	64.05 %	4°
BACTERINA - 3	3°	232	13.64	75.81 %	0 %	5°
	5°	205	12.05	66.99 %	11.65 %	5°
	7°	148	8.70	48.36 %	36.21 %	5°
	9°	103	6.43	35.76 %	52.85 %	3°
	12°	92	5.75	31.94 %	57.84 %	4°
	15°	72	4.50	25.00 %	67.00 %	4°
	17°	58	3.62	20.13 %	73.46 %	3°
BACTERINA - 4	3°	195	10.26	67.01 %	0 %	2°
	5°	179	9.42	62.33 %	8.18 %	2°
	7°	142	7.47	41.82 %	27.19 %	3°
	9°	120	6.31	35.08 %	38.49 %	2°
	12°	95	5.00	27.78 %	51.26 %	2°
	15°	77	4.05	22.51 %	60.52 %	2°
	17°	60	3.15	17.54 %	69.29 %	2°
BACTERINA - 5	3°	214	11.26	62.57 %	0 %	3°
	5°	208	10.94	60.81 %	2.84 %	4°
	7°	165	8.68	48.24 %	22.91 %	4°
	9°	171	9.00	50.00 %	20.07 %	5°
	12°	139	7.32	40.64 %	34.99 %	5°
	15°	128	6.73	37.42 %	40.23 %	5°
	17°	94	4.84	27.48 %	56.07 %	5°
CONTROL	3°	159	7.95	44.16 %	0 %	
	5°	179	8.95	49.72 %	0 %	
	7°	127	6.35	35.27 %	29.05 %	
	9°	118	5.80	32.22 %	35.19 %	
	12°	87	4.35	24.17 %	51.39 %	
	15°	99	4.95	27.50 %	44.69 %	
	17°	85	4.25	23.61 %	52.51 %	

FIGURA No. 2

# PORCENTAJE AFECTADOS

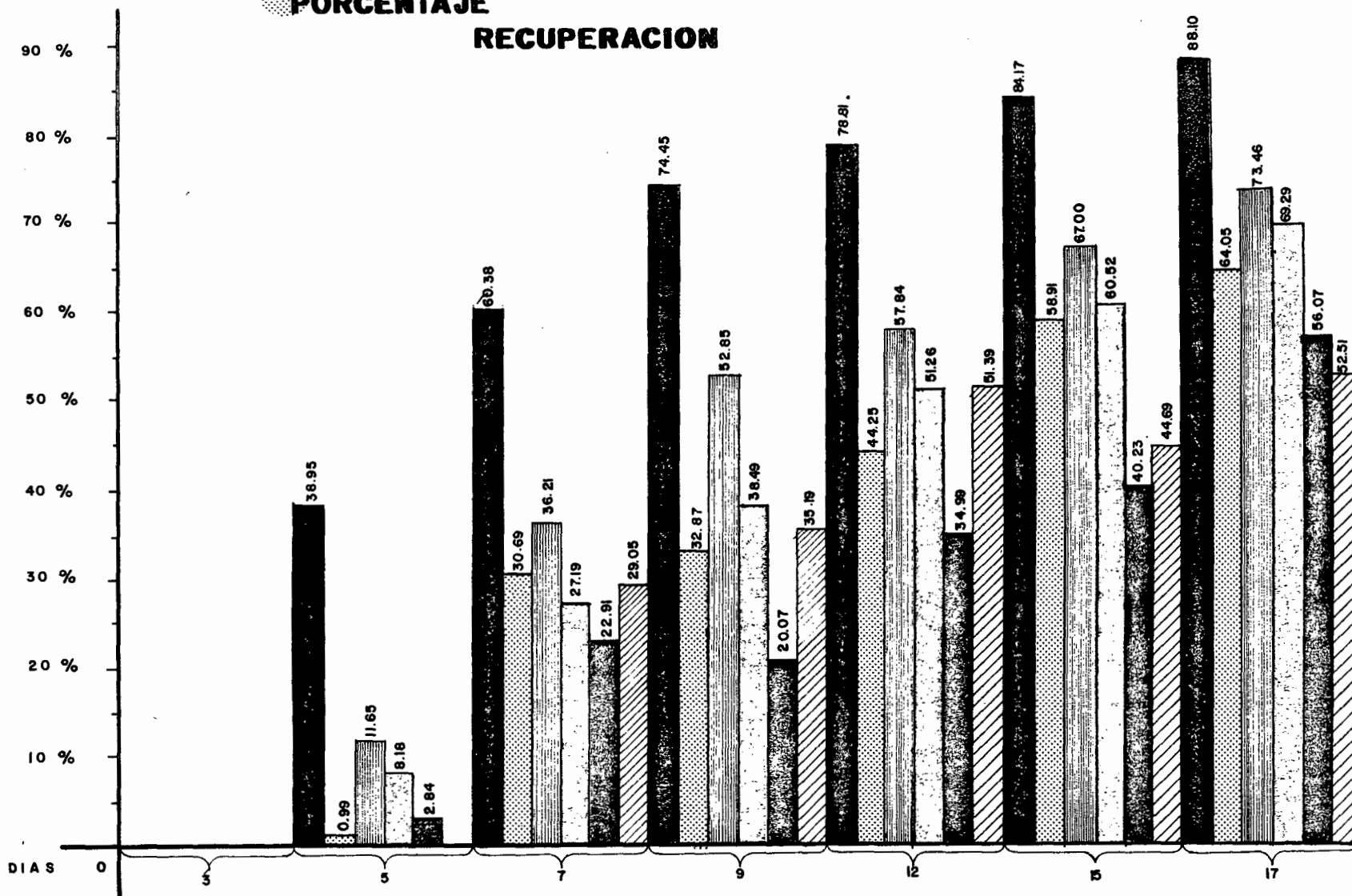


escala 1:50

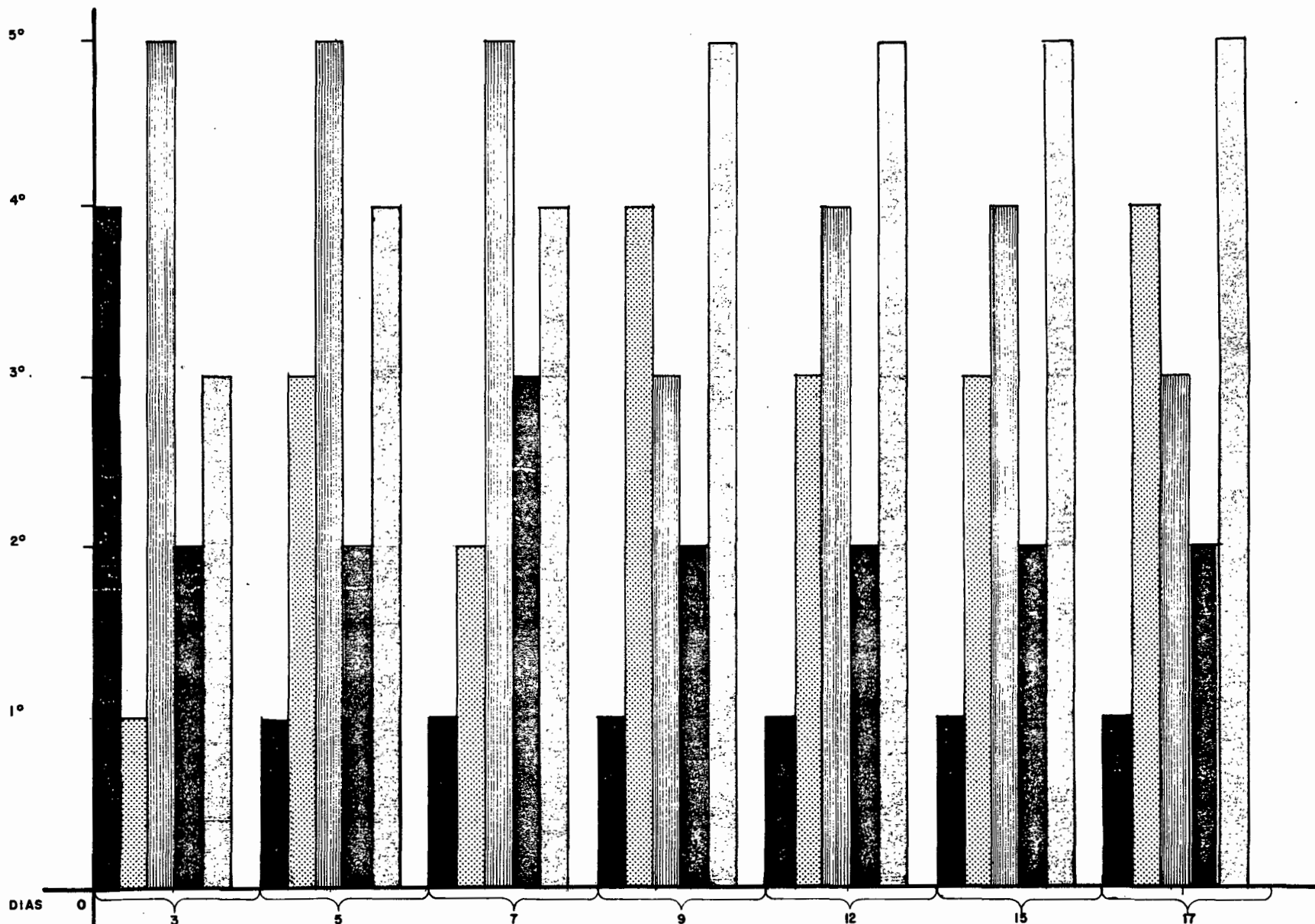
escala 1:125

FIGURA No 3

# PORCENTAJE RECUPERACION



- BACTERINA (1)
  - BACTERINA (2)
  - BACTERINA (3)
  - BACTERINA (4)
  - BACTERINA (5)
  - CONTROL
- FIGURA No. 4



LUGAR

- BACTERINA (1)
- BACTERINA (2)
- BACTERINA (3)
- BACTERINA (4)
- BACTERINA (5)

FIGURA, No. 5

escala 1 : 125  
**GRAFICA DE LUGARES QUE  
 OCUPARON EN LA TABLA GENERAL**

## DISCUSION

1.- Esterilidad de las bacterinas: La bibliografía menciona lo siguiente para pruebas de esterilidad en bacterinas de H.P.: No debe observarse crecimiento en bacterinas inactivadas, y deben desecharse los lotes contaminados (3).

En nuestros resultados encontramos 3 de 5 bacterinas utilizadas, contaminadas con "Alcaligenes faecalis". (No hay que olvidar que esta prueba es solo cualitativa).

2.- Aislamiento y conservación de la cepa de H.P. para desafío:

- a) Aislamiento.
- b) Mantenimiento.
- c) Dosis.

a) y b).- El método que utilizamos en este estudio está descrito en la metodología; es similar al descrito por muchos investigadores, así como los medios de cultivo y la inoculación simultánea a machos Leghorn.

c).- No existe una dosis específica para un desafío de H.P., por lo tanto no tuvimos un patrón exacto para este paso, en la mayoría de los trabajos elaborados por los investigadores, mencionan haber aplicado 0.1 ml de saco vitelino infectado con H.P., intrasinalmente (4), pero sin haber determinado la cantidad de UFC/ml. En este trabajo utilizamos 0.2 ml por seno infraorbitario, o sea, un total de 0.4 ml por ave, sabiendo que teníamos  $2 \times 10^8$  UFC/ml de saco vitelino infectado.

3.- Aplicación de las bacterinas a las aves y lectura de síntomas:

a).- Tipos de bacterina utilizados.

b).- Comparación de resultados.

a).- Las bacterinas utilizadas en éste trabajo fueron de origen muy variado quedando en el siguiente orden:

Bacterina n° 1, origen: embrión de pollo.

Bacterina n° 2, origen: caldo, con adyuvante de hidróxido de aluminio.

Bacterina n° 3, origen: embrión de pollo.

Bacterina n° 4, origen: caldo, con adyuvante oleoso.

Bacterina n° 5, origen: caldo, con adyuvante oleoso.

b).- Hagamos un recordatorio de los resultados obtenidos por los investigadores en bacterinas de distinto origen, para después compararlos con nuestros resultados.

Bacterinas preparadas en caldo, inactivadas con merthiolate y potencializadas con hidróxido de aluminio han sido encontradas más efectivas que las producidas en embrión (Matsumoto y Yamamoto 1971; Davis y col. 1976 a) (6). En nuestro trabajo encontramos que la bacterina más efectiva fue la bacterina n° 1 y es producida en embrión de pollo.

Se han comparado las bacterinas de origen de embrión de pollo contra las de origen en caldo, teniendo ésta última significativa gran protección para el tracto respiratorio, contra bajas de producción (huevo) y pérdidas de peso, resultando en pocas ''

aves portadoras (Matsumoto y Yamamoto 1971); confiere inmunidad por 9 meses (3 meses la producida en embrión), y un alto rango de conversión serológica (aglutinación) post-vacunación (Matsumoto y Yamamoto 1971, 1975) (6). Bien !, comparando estos resultados con los obtenidos en el presente trabajo, encontramos lo siguiente: la bacterina n° 1 producida en embrión de pollo, fue la más efectiva; teniendo menor porcentaje de afectados (26.14%) desde el 5° día y mayor porcentaje de recuperación (60.60%); la bacterina que ocupó el 2° lugar en este trabajo fué la bacterina n° 4, producida en caldo y con adyuvante oleoso; tuvo una diferencia contra la bacterina n° 1, en cuanto a porcentaje de afectados, de más de un 10% (10.11%), y en cuanto a porcentaje de recuperación, de más de un 24% (24.19%). Comparando los resultados de la bacterina n° 1 contra los de la bacterina n° 5, que fue la que ocupó el 5° lugar; encontramos una diferencia en el porcentaje de afectados de más de un 20% (20.59%), y en el porcentaje de recuperación, de un poco más del 35% (35.30%); por lo tanto, nuestros resultados no coinciden con los mencionados por los investigadores.

Las pruebas de duración de la inmunidad conferida por las distintas bacterinas y la de aglutinación, no se llevaron a cabo por factores económicos.

Nota importante: en el transcurso de la aplicación de las bacterinas, se tuvo un brote de gangrena del ala, que se trató con oxitetraciclina inyectable; el brote se controló definitivamente, pero hubo bajas en las aves, quedando los grupos como si



gue :

Grupo de la bacterina n° 1 = 19 aves.

Grupo de la bacterina n° 2 = 19 aves.

Grupo de la bacterina n° 3 = 16 aves.

Grupo de la bacterina n° 4 = 19 aves.

Grupo de la bacterina n° 5 = 19 aves.

Grupo control = 20 aves.

En la aplicación de bacterinas no encontramos ningún problema, excepto, que después de la segunda aplicación de la bacterina n° 4, encontramos la parte dorsal del cuello inflamada (zona de aplicación), inflamación que desapareció al 6° día, sin provocar ningún problema.

## CONCLUSIONES

a).- Conclusiones del chequeo de esterilidad: al observar los resultados de esta prueba, podemos concluir, que a pesar de ser solo una prueba cualitativa, encontramos 3 bacterinas comerciales, contaminadas con *Alcaligenes faecalis*, si esto lo manejamos con porcentajes, un 60% de las bacterinas utilizadas estuvieron contaminadas.

b).- Conclusiones de la prueba a las bacterinas:

1er. Lugar: Bacterina n° 1, origen: embrión de pollo.

2º Lugar: Bacterina n° 4, origen: caldo con vehículo oleoso.

3er. Lugar: Bacterina n° 2, origen: caldo con hidróxido de aluminio.

4º Lugar: Bacterina n° 3, origen: embrión de pollo.

5º Lugar: Bacterina n° 5, origen: caldo con vehículo oleoso.

c).- Por lo tanto, en éste caso, las bacterinas de origen de embrión de pollo, fueron más efectivas que las producidas en caldo.

## SUMARIO

Se utilizaron 120 machos Leghorn, divididos inicialmente en 6 grupos de 20 aves cada uno, para probar la efectividad de 5 bacterinas comerciales contra la coriza infecciosa.

Se mantuvieron las aves, de los grupos 1 al 5 en un '' cuarto aislado, y el grupo control en un cuarto diferente.

Se hicieron 3 aplicaciones de bacterina al grupo correspondiente, con intervalos de 2 semanas cada uno; al 14<sup>º</sup> día de la tercera aplicación, se desafiaron los 6 grupos, 0.4 ml de saco vitelino infectado con H.P., por ave; que contenía  $2 \times 10^8$  UFC/ml, vía intrasínusal, se inició la toma de lecturas de síntomas al 3<sup>er</sup>. día post-inoculación, y se siguieron tomando el 5<sup>º</sup>, 7<sup>º</sup>, 9<sup>º</sup>, 12<sup>º</sup>, 15<sup>º</sup> y 17<sup>º</sup> días, obteniendo los siguientes resultados:

1<sup>er</sup>. Lugar: Bacterina n<sup>º</sup> 1.

2<sup>º</sup> Lugar: Bacterina n<sup>º</sup> 4.

3<sup>er</sup>. Lugar: Bacterina n<sup>º</sup> 2.

4<sup>º</sup> Lugar: Bacterina n<sup>º</sup> 3.

5<sup>º</sup> Lugar: Bacterina n<sup>º</sup> 5.

Sacando como conclusión, que una bacterina de origen de embrión, fue en éste caso la que mejor se comportó, ante un desafío tan fuerte.

Contrariamente, a lo que menciona la bibliografía.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- American Asociation of Avian Pathologist  
Isolation and Identification of Avian Pathogens  
Second Edition - 1980  
16 - 19.
- 2.- American Asociation of Avian Pathologist  
Avian Diseases  
Vol. 25, n° 2, april-june '81  
479.
- 3.- Committee on Animal Health, Subcommittee on Avian Diseases  
Methods for Examining Poultry Biologics and for Identifying '  
and Quantifying Avian Pathogens - 1971  
174 - 180.
- 4.- M. O. Oluwadiya, D.V.M.<sup>a</sup>, et. al.  
Proceedings of 28th Western Poultry Disease Conference and ''  
13th Poultry Health Symposium - 1979  
Evaluation of Some Commercially Available Infectious Coriza '  
(Haemophilus Gallinarum) Bacterins in Chickens  
10.
- 5.- Hofstad & Calnek  
Diseases of Poultry  
6th Edition - 1972  
272 - 280.

- 6.- Hofstad and Calnek  
Diseases of Poultry  
7th Edition - 1978  
225 - 232.
- 7.- Merchant and Packer  
Veterinary Bacteriology and Virology  
7th Edition - 1977  
358.
- 8.- Witheman and Bickford & A.A.A.P.  
Avian Diseases Manual  
3th Impresion - 1979  
88 - 90.
- 9.- Zeceña Anguiano Cesar  
Costos de Tratamiento de Coriza Infecciosa con Antibióticos y  
Bacterina y Exposición Controlada  
Tesis - 1970.
- 10.- Zuzuarregui Sierra Rafael  
Estudio Comparativo de 3 Bacterinas Contra Coriza Infecciosa  
de las Aves; Preparadas en Medios de Cultivo Líquidos  
Tesis - 1978.